



UNIVERSIDAD DE MÁLAGA

Facultad de Medicina

Departamento de Cirugía, Obstetricia y Ginecología

TESIS DOCTORAL

INFECCIÓN DEL VIRUS PAPILOMA HUMANO

Y CÁNCER DE CUELLO UTERINO:

**DISTRIBUCIÓN DE GENOTIPOS EN MUJERES CONIZADAS
POR LESIÓN ESCAMOSA INTRAEPITELIAL DE ALTO GRADO
(CIN 2-3) y ANÁLISIS DE LOS COFACTORES DE CÁNCER DE
CÉRVIX EN MÁLAGA.**

Eva María Sánchez Sánchez

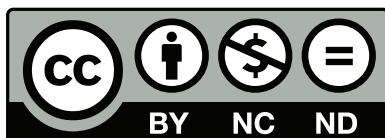
2012



SPICUM
servicio de publicaciones

AUTOR: Eva María Sánchez Sánchez

EDITA: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Málaga



Esta obra está sujeta a una licencia Creative Commons:

Reconocimiento - No comercial - SinObraDerivada (cc-by-nc-nd):

[Http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/es](http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/es)

Cualquier parte de esta obra se puede reproducir sin autorización pero con el reconocimiento y atribución de los autores.

No se puede hacer uso comercial de la obra y no se puede alterar, transformar o hacer obras derivadas.

Esta Tesis Doctoral está depositada en el Repositorio Institucional de la Universidad de Málaga (RIUMA): riuma.uma.es



Dpto. de Cirugía, Obstetricia y Ginecología

FACULTAD DE MEDICINA

UNIVERSIDAD DE MÁLAGA

Dr. D. Miguel Ángel Olalla Herrera, Profesor asociado del Departamento de Cirugía, Obstetricia y Ginecología de la Universidad de Málaga y coordinador de la Unidad de Patología del tracto genital inferior del Hospital Universitario Virgen de la Victoria.

Certifica:

Que el trabajo de tesis doctoral realizado por D^a Eva M^a Sánchez Sánchez ha sido ejecutado bajo mi codirección y lleva como título: INFECCIÓN DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO Y CÁNCER DE CUELLO DE ÚTERO: DISTRIBUCIÓN DE GENOTIPOS EN MUJERES CONIZADAS POR LESIÓN ESCAMOSA INTRAEPITELIAL CIN 2-3 Y ANÁLISIS DE LOS COFACTORES DE CÁNCER DE CÉRVIX EN MÁLAGA.

Que dicho trabajo versa sobre un tema original de investigación y tiene el suficiente rigor científico para que, de acuerdo con la normativa legal vigente, sea presentado en esta Facultad, al objeto de obtener el Grado de Doctor en Medicina y Cirugía.

Y para que conste a los efectos legales, expedimos la presente certificación, en Málaga a de 2012.

Fdo. Miguel Ángel Olalla Herrera



Dpto. de Cirugía, Obstetricia y Ginecología

FACULTAD DE MEDICINA

UNIVERSIDAD DE MÁLAGA

Dr. D. Luis Miguel Córdor Muñoz, Profesor Titular de la Cátedra de Obstetricia y Ginecología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Málaga y Director de la Unidad de Gestión Clínica de Obstetricia y Ginecología del Hospital Universitario Virgen de la Victoria.

Certifica:

Que el trabajo de tesis doctoral realizado por D^a Eva M^a Sánchez Sánchez ha sido ejecutado bajo mi codirección y lleva como título: INFECCIÓN DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO Y CÁNCER DE CUELLO DE ÚTERO: DISTRIBUCIÓN DE GENOTIPOS EN MUJERES CONIZADAS POR LESIÓN ESCAMOSA INTRAEPITELIAL CIN 2-3 Y ANÁLISIS DE LOS COFACTORES DE CÁNCER DE CÉRVIX EN MÁLAGA.

Que dicho trabajo versa sobre un tema original de investigación y tiene el suficiente rigor científico para que, de acuerdo con la normativa legal vigente, sea presentado en esta Facultad, al objeto de obtener el Grado de Doctor en Medicina y Cirugía.

Y para que conste a los efectos legales, expedimos la presente certificación, en Málaga a de 2012.

Fdo. Prof. D. L. M. Córdor Muñoz



Dpto. de Cirugía, Obstetricia y Ginecología

FACULTAD DE MEDICINA

UNIVERSIDAD DE MÁLAGA

Dra. D^a Francisca Rius Díaz, Profesora Titular del Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública e Historia de la Medicina de la Facultad de Medicina de la Universidad de Málaga.

Certifica:

Que el trabajo de tesis doctoral realizado por D^a Eva M^a Sánchez Sánchez ha sido ejecutado bajo mi codirección y lleva como título: INFECCIÓN DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO Y CÁNCER DE CUELLO DE ÚTERO: DISTRIBUCIÓN DE GENOTIPOS EN MUJERES CONIZADAS POR LESIÓN ESCAMOSA INTRAEPITELIAL CIN 2-3 Y ANÁLISIS DE LOS COFACTORES DE CÁNCER DE CÉRVIX EN MÁLAGA.

Que dicho trabajo versa sobre un tema original de investigación y tiene el suficiente rigor científico para que, de acuerdo con la normativa legal vigente, sea presentado en esta Facultad, al objeto de obtener el Grado de Doctor en Medicina y Cirugía.

Y para que conste a los efectos legales, expedimos la presente certificación, en Málaga a de 2012.

Fdo. Prof. D^a. F. Rius Díaz

A mi Marido

Agradecimientos:

Esta tesis ha sido posible gracias a la ayuda de muchas personas que me han acompañado en este proyecto. Me gustaría agradecerles a cada una de ellas el apoyo brindado.

En primer lugar a mis directores de tesis:

- Al Dr. M.A. Olalla, por transmitirme día a día su entusiasmo, su capacidad de trabajo y su saber. Por su apoyo incondicional, sin su ayuda no hubiera sido posible la realización de este trabajo.
- Al Dr. L. Cóndor que confió en mí y me alentó en todo momento.
- A la Dra. Ríos por su colaboración en el análisis estadístico de los datos, por su ánimo constante y sus consejos.

A mi marido, el pilar de mi vida, que me ha ayudado durante este largo camino, transmitiéndome siempre su amor y comprensión.

A mis padres y mis hermanas, que han creído en mí y desde la distancia me han apoyado en todo.

A mis compañeros del Servicio de Obstetricia y Ginecología, que en una primera etapa fue el Hospital Universitario Carlos Haya y en la actualidad es el Hospital Clínico Universitario Virgen de la Victoria de Málaga, la ayuda y estímulo prestado.

Quiero así mismo resaltar las facilidades y apoyo manifestado por el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario Carlos Haya en la búsqueda de datos y parámetros utilizados en esta memoria. Al Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Victoria de Málaga, en especial a la Dra. Ortega.

Al Servicio de Información del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Victoria, en especial a Fernando, por dedicarme su tiempo.

Y en última instancia, a todas las personas que han contribuido a que este proyecto haya sido posible, quiero expresarles mi cariño y mi agradecimiento más sincero.

ÍNDICES

ÍNDICE DE CONTENIDO

I.	INTRODUCCIÓN	2
1.	CÁNCER DE CUELLO UTERINO	2
1.1.	Epidemiología	2
1.2.	Mortalidad del cáncer de cuello uterino.....	4
2.	VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (VPH)	4
2.1.	Prevalencia de la Infección VPH	5
2.2.	Estructura del Virus del Papiloma Humano.....	6
2.3.	Relación del VPH con la patología oncológica.....	8
2.4.	Transmisión de la infección VPH.	9
2.5.	Interacción virus-huésped	11
2.6.	Historia natural de la Infección por VPH y Carcinogénesis	12
2.7.	Oncogénesis por VPH.....	20
3.	PREVENCIÓN DEL CÁNCER DE CUELLO UTERINO	21
3.1.	Prevención secundaria del cáncer de cuello uterino.....	21
3.2.	PREVENCIÓN PRIMARIA FRENTE AL CÁNCER DE CUELLO DE ÚTERO.....	39
4.	TRATAMIENTO DE LA NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL	43
4.1.	CONIZACIÓN.....	43
4.2.	SEGUIMIENTO POSTRATAMIENTO DE LA NEOPLASIA INTRAEPITELIAL.....	44
II.	OBJETIVOS.....	47
1.	OBJETIVO FUNDAMENTAL.....	47
2.	OBJETIVOS SECUNDARIOS	47
III.	MATERIAL Y MÉTODO.....	49
1.	PLANTEAMIENTO METODOLÓGICO	49

2. POBLACIÓN DE ESTUDIO.....	49
2.1. Criterios de inclusión	49
2.2. Criterios de exclusión.....	50
3. PROTOCOLO DE ESTUDIO.....	50
4. VARIABLES DEL ESTUDIO.....	51
5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS	54
5.1. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA	54
5.2. ESTADÍSTICA ANALÍTICA O INFERENCIAL	55
IV. RESULTADOS	57
1. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS EPIDEMIOLÓGICOS:	57
1.1. Edad.....	57
1.2. Procedencia de las pacientes	60
2. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS COFACTORES	62
2.1. COFACTORES DE ADQUISIÓN DE LA INFECCIÓN POR VPH	62
2.2. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS COFACTORES IMPLICADOS EN LA CARCINOGENESIS CERVICAL	66
2.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS DIAGNÓSTICOS	75
Genotipo VPH.....	78
Colposcopia.....	83
Biopsia cervical dirigida por colposcopia	85
Resultado histológico del cono	87
Estudio de los márgenes de la conización:.....	88
Tratamiento quirúrgico colplementario.....	92
Persistencia de la infección por VPH-AR post-tratamiento.....	95
V. DISCUSIÓN.....	100
1. CONSIDERACIONES SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO	101

1.1. Edad.....	101
2. CONSIDERACIONES SOBRE LOS COFACTORES DE ADQUISIÓN DE LA INFECCIÓN POR VPH	101
2.1. Inicio de las relaciones sexuales.....	101
2.2. Número de compañeros sexuales	103
3. CONSIDERACIONES SOBRE LOS COFACTORES IMPLICADOS EN LA CARCINOGENESIS CERVICAL	104
3.1. Hábito tabáquico	104
3.2. Gravidez	105
3.3. Anticonceptivos hormonales	106
3.4. Inmunosupresión	106
4. CONSIDERACIONES SOBRE LOS RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DIAGNÓSTICAS	108
4.1. Infección por VPH	108
4.2. Genotipo VPH.....	109
4.3. Colposcopia.....	111
4.4. Biopsia cervical	112
5. CONSIDERACIONES SOBRE LA CONDUCTA TERAPEÚTICA Y SEGUIMIENTO.	113
5.1. Conización.....	113
5.2. Seguimiento.....	115
VI. CONCLUSIONES.....	120
VII. BIBLIOGRAFÍA	123

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Incidencia del cáncer de cuello uterino por 100.000 mujeres, adaptado WHO 2008 (5).	3
Figura 2. Mapa genético del papilomavirus tipo 16 (23).	7
Figura 3. Funciones de E6-E7.	8
Figura 4. Infección por VPH	12
Figura 5. Esquema de la expresión morfológica de CIN y CEI (34).....	13
Figura 6. Secuencia temporal Infección viral-SIL-Carcinoma.....	14
Figura 7. Carcinogénesis del cáncer de cuello uterino	15
Figura 8. Citología cervical.	23
Figura 9. Función de p16.....	27
Figura 10. Recomendaciones de la SEGO 2010 para el cribado poblacional en mujeres no vacunadas.....	29
Figura 11. Recomendaciones de la SEGO 2010 para <i>screening</i> poblacional en mujeres vacunadas.....	30
Figura 12. Terminología colposcópica del cuello uterino de IFCPC 2011	33
Figura 13. Terminología colposcópica del cuello uterino-apéndice de IFCPC 2011.....	34
Figura 14. Lesión premaligna con epitelio de alta densidad nuclear.....	34
Figura 15. Cambios menores	35
Figura 16. Cambios mayores	36
Figura 17. Neoplasia Intraepitelial Cervical.....	54
Figura 18. Distribución por edad.....	58
Figura 19. Distribución de la edad media de las pacientes en función de la lesión histológica.....	59
Figura 20. Distribución de la procedencia de las pacientes.....	61
Figura 21. Histograma de la edad de inicio de las relaciones sexuales.	63
Figura 22. Histograma del número de parejas sexuales	65
Figura 23. Consumo de tabaco	66
Figura 24. Número medio de embarazos, partos y abortos y grado de lesión.....	70
Figura 25. Utilización de anticoncepción hormonal.....	71
Figura 26. Estado de inmunodepresión	73
Figura 27. Grado de lesión y test ADN-VPH.....	77

Figura 28. Genotipos VPH	79
Figura 29. Frecuencia de los genotipos VPH en los casos de carcinoma de cérvix.....	81
Figura 30. Frecuencia de los genotipos VPH en los casos CIN 2-3.....	82
Figura 31. Resultados colposcopia	83
Figura 32. Grado de lesión	87
Figura 33. Lesión histológica y afectación de márgenes exocervicales	90
Figura 34. Grado de lesión cervical y afectación de márgenes endocervicales	92
Figura 35. Tratamiento quirúrgico complementario.....	93
Figura 36. Persistencia VPH post-tratamiento	96

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de los VPH en función de su riesgo de transformación neoplásica	8
Tabla 2. Sistema de clasificación Bethesda.....	24
Tabla 3. Composición de las vacunas frente a VPH actualmente disponibles en España. Adaptado de Cortés J et al (92)	40
Tabla 4. Descriptores de la edad.....	57
Tabla 5. Grupos de edad (Frecuencia absoluta y relativa).	58
Tabla 6. Descriptores de edad por tipo de lesión cervical (p=0,57)	59
Tabla 7. Procedencia de las pacientes	60
Tabla 8. Procedencia de las pacientes agrupadas por continentes.....	61
Tabla 9. Parámetros descriptivos de la edad del primer coito.	62
Tabla 10. Distribución conjunta de edad de la primera relación sexual y lesión cervical (p= 0,709).	64
Tabla 11. Parámetros descriptivos del nº de parejas sexuales	65
Tabla 12. Tabla de contingencia entre el grado de lesión y el consumo de tabaco (p= 0,811).....	67
Tabla 13. Distribución de frecuencias del número de gestaciones.....	68
Tabla 14. . Lesión histológica y gravidez (p= 0,015)	69
Tabla 15. Lesión histológica y número de partos (p =0,001)	69
Tabla 16. Lesión histológica y número de partos (p=0,499)	70
Tabla 17. Tabla de contingencia entre el grado de lesión y el uso de anticonceptivos hormonales (p = 0,236).....	72
Tabla 18. Tabla de contingencia entre la lesión histológica y estado inmunológico (p=0,129)	74
Tabla 19. Descriptores de infección por VPH.....	75
Tabla 20. Descriptores tipo de infección VPH.	75
Tabla 21. Tabla de contingenica entre el grado de lesión y resultado del test ADN-VPH (p=0,0001)	76
Tabla 22. Genotipos VPH (frecuencia absoluta y relativa)	78
Tabla 23. Tabla de contingencia grado de lesión histológica y genotipo.....	81
Tabla 24. Distribución de los resultados colposcópicos.....	83
Tabla 25. Tabla de contingencia grado de lesión y colposcopia (p \leq 0,0001).....	84

Tabla 26. Biopsia cervical dirigida por colposcopia	85
Tabla 27. Tabla de contingencia grado de lesión y biopsia cervical ($p \leq 0,0001$).....	86
Tabla 28. Afectación de márgenes exocervicales (frecuencia relativa y absoluta)	88
Tabla 29. Afectación de márgenes endocervicales (frecuencia relativa y absoluta)	88
Tabla 30. Tabla de contingencia lesión histológica y afectación de márgenes exocervicales ($p = 0,01$)	89
Tabla 31. Tabla de contingencia lesión histológica cervical y afectación de márgenes endocervicales ($p=0,33$)	91
Tabla 32. Tabla de contingencia grado de lesión histológica y tratamiento complementario ($p \leq 0,0001$).....	94
Tabla 33. Persistencia VPH post-tratamiento.....	95
Tabla 34. Tabla de contingencia grado de lesión histológica y persistencia del VPH post- tratamiento ($p= 0,891$)	97
Tabla 35. Duración media de la infección por VPH-AR.....	109
Tabla 36. Resultados de eficacia de los tratamientos de la CIN. Adaptada de la referencia 137	113
Tabla 37 Valor pronóstico del test del ADN de VPH en el seguimiento postratamiento de neoplasias intraepiteliales (CIN2-3). Adaptado de referencia (60)	118

INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

1. CÁNCER DE CUELLO UTERINO

Uno de los descubrimientos más importantes en la investigación oncológica de estos últimos 25 años ha sido la demostración de que el cáncer de cuello uterino está promovido por la infección persistente o no resuelta de ciertos genotipos de alto riesgo del virus del papiloma humano (VPH-AR).

La evidencia científica ante numerosos e irrefutables estudios, han permitido demostrar y describir pormenorizadamente que el cáncer de cuello uterino es, en realidad, una secuela a largo plazo de una infección de transmisión sexual (I.T.S.) no resuelta y provocada por ciertos genotipos del VPH (1).

Las asociaciones observadas entre la infección por el VPH y el cáncer cervical son las más fuertes, dentro de la oncología humana actual, existiendo prácticamente consenso mundial en calificar al VPH como la *causa necesaria* (ausencia de enfermedad en ausencia de infección) aunque insuficiente, debido al gran número de infecciones que se resuelven espontáneamente, de cáncer de cuello uterino (2).

1.1.Epidemiología

El cáncer de cérvix es uno de los más importantes problemas de salud en el mundo, ya que este cáncer es el segundo cáncer más frecuente en las mujeres a nivel mundial, con estimaciones de 585.278 nuevos casos en 2010, de los cuales un 85.5% de éstos se produjeron en países en desarrollo (3).

La incidencia del cáncer de cuello uterino es muy variable de unas regiones a otras y está íntimamente relacionada con el nivel de desarrollo de una población.

Aproximadamente el 83 % de ellos se producen en países en vías de desarrollo, principalmente en Asia, África y Sudamérica, donde el cáncer cervical representa el 15% del total de los cánceres femeninos. Sin embargo en los países industrializados el cáncer de cuello de útero supone alrededor del 3,6% de los nuevos casos de cáncer (4).

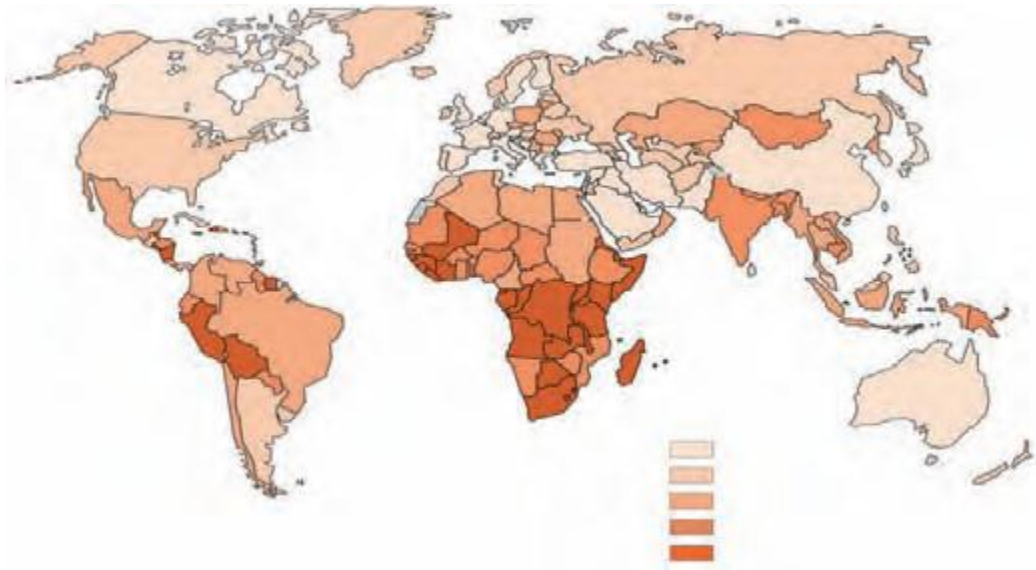


Figura 1. Incidencia del cáncer de cuello uterino por 100.000 mujeres, adaptado WHO 2008 (5).

En Europa se observan tasas muy elevadas en los países del Este de Europa y tasas bajas en los países del Sur de Europa, así como en algunos nórdicos. España está incluida dentro de las poblaciones de riesgo moderado/ bajo de cáncer de cuello uterino. La incidencia de cáncer de cuello uterino en España es de 7,6 casos por 100.000 mujeres/año, se estima que en España se diagnostican aproximadamente unos 2.103 casos de cáncer de cuello uterino por año (3). Representa el séptimo tumor maligno más frecuente a nivel global, y el segundo cáncer más frecuente en mujeres de entre 15 y 44 años. No obstante existen notables diferencias de unas regiones a otras.

1.2.Mortalidad del cáncer de cuello uterino

El cáncer de cuello uterino es la causa de 227.899 casos de muerte a nivel mundial, de las cuales el 88% tienen lugar en países en desarrollo (3). En Europa el cáncer de cérvix es la séptima causa de mortalidad por cáncer, pero en la mujer joven de 18 a 45 años, es la segunda (4).

Existen diferencias geográficas, en Europa la supervivencia a los 5 años es del 63% (5) y en Zimbabue del 30,5% (6). Se calcula que en España mueren aproximadamente 2 mujeres/día por cáncer de cérvix (4).

2. VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (VPH)

El virus del papiloma humano (VPH) es un pequeño virus de ADN de doble cadena y de pequeño tamaño (aproximadamente 8.000 pares de bases) que han convivido con la especie humana durante milenios, sufriendo relativamente pocos cambios en su composición genética.

En función de su tropismo se clasifican en (7):

- VPHs **cutaneotrópicos**: se aíslan frecuentemente en verrugas cutáneas, en enfermos con epidermodisplasia verruciforme, en lesiones cutáneas en pacientes inmunodeprimidos post-transplante y en algunos tumores epiteliales (VPHs 1, 4, 5, 8, 41, 48, 60, 63 y 65).
- VPHs **mucosotrópicos**: se identifican en lesiones benignas y malignas del tracto anogenital de ambos sexos. Ocasionalmente, estos tipos virales se aíslan en tejidos y lesiones de la cavidad oral, orofaringe, laringe y en menor grado esófago, conjuntiva y lecho ungueal (VPHs 6, 11, 13, 16, 18, 26, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 39, 42, 44, 45, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 58, 59, 64, 66, 67, 68, 69, 70, 73).

- Finalmente, un último grupo de VPHs se aíslan indistintamente en tejidos y lesiones cutáneas o mucosas (VPHs 2, 3, 7, 10, 27, 28, 29, 40, 43, 57, 61, 62 y 72) y su asociación con lesiones malignas está menos establecida.

La expresión clínica más conocida de la infección viral la constituyen los *condilomas acuminados* o verrugas genitales, asociados en aproximadamente un 90 % a infecciones por los genotipos de VPHs 6 y 11. Un encuesta realizada en el Reino Unido en el año 2000 estima una prevalencia de verrugas genitales del 3,6% en varones y del 4,1% en mujeres (8). En España el estudio AFRODITA estima una prevalencia de verrugas genitales en mujeres del 1% (9).

El VPH es el responsable de un 5,2% de todos los tumores humanos, correspondiendo un 2,2% a países desarrollados y un 7,7% a países en vías de desarrollo (10). Las fracciones atribuibles representan entre el 64-91% del cáncer de vagina, entre el 84-94% del cáncer de ano, entre el 60-90% del cáncer de vulva basaloide, el 35,6% del cáncer de orofaringe y el 23% del cáncer de cavidad oral y laringe (11).

2.1.Prevalencia de la Infección VPH

El VPH representa la infección de transmisión sexual más frecuente. Su prevalencia es muy elevada en varones y en mujeres jóvenes sexualmente activos. En la segunda década de la vida se estima una prevalencia del 20-25%, pero en algunos grupos de adolescentes o de mujeres jóvenes la infección llega a afectar hasta a un 70% de individuos (12). En la tercera década la prevalencia disminuye, y a partir de los 35 años se mantiene estable en unos valores próximos al 5% (13).

La prevalencia de la infección por VPH en mujeres asintomáticas, varía entre el 2 y el 44% (14). La prevalencia del VPH-AR en la población general se correlaciona muy bien con las tasas de incidencia de cáncer de cuello uterino en todas las regiones del mundo (15). Las tasas ajustadas por edad son más altas en los países con mayor incidencia de carcinoma de cérvix.

Los valores más elevados se observan en África (23,4%) y en América (12,8%), España se sitúa entre los países de baja frecuencia. La prevalencia del ADN del VPH en mujeres con citología normal, es de un 10,2% a nivel global, en África un 22,4%, en América un 13%, en Europa un 8,2% y en Asia un 7,9% (16) y, concretamente, en Málaga del 11.43% (17).

En América latina y España se ha observado un segundo pico de infección en mujeres alrededor de la menopausia, que puede ser debido a una reactivación de infecciones latentes, causadas por una pérdida gradual de la inmunidad o infecciones nuevas que ocurren en el periodo perimenopáusicos (18).

En España se estima que la prevalencia del VPH en mujeres de la población general es de aproximadamente el 9% en el conjunto de edades, con una prevalencia superior en las mujeres jóvenes y un descenso gradual con la edad hasta llegar a valores inferiores al 4% en edades perimenopáusicas (19). Esta prevalencia es similar a la estimada para Europa (9,7 %) y significativamente más baja que la mundial (20). El VPH 16 es el más prevalente en mujeres con citología normal, LSIL y HSIL (21).

2.2. Estructura del Virus del Papiloma Humano

Taxonómicamente los VPHs pertenecen a la familia Papillomaviridae. Son virus muy estables, con capacidad de infección duradera y resistencia a numerosos agentes terapéuticos. Es un virus pequeño, constituido por una cápside icosaédrica y un genoma compuesto de una doble hélice de ADN, formada por 8.000 pares de bases (figura).

Su genoma se divide en tres zonas (22):

Región temprana (E: early): representa el 45% del genoma. Tiene hasta ocho regiones de lectura abierta (E1-E8) que codifican las proteínas no estructurales, cuya función es controlar la replicación del ADN viral:

- Las proteínas E1-E2 pueden actuar como activadoras de la transcripción.
- E4: maduración y replicación.
- E5: estimula la proliferación.
- Las proteínas E6-E7: son oncoproteínas transformantes.

Región tardía (L: late): corresponde al 40% del genoma. Consta de dos genes (L1-L2) cuya expresión genera las proteínas para el ensamblaje de la cubierta viral, la cápside.

Región larga de control (LCR): constituye el 15% del genoma viral. Controla la expresión de los genes E6 y E7.

Los genes de expresión temprana (E) difieren en su secuencia entre los diferentes tipos de VPHs. Los genes de expresión tardía (L), presentan notables similitudes entre ellos.

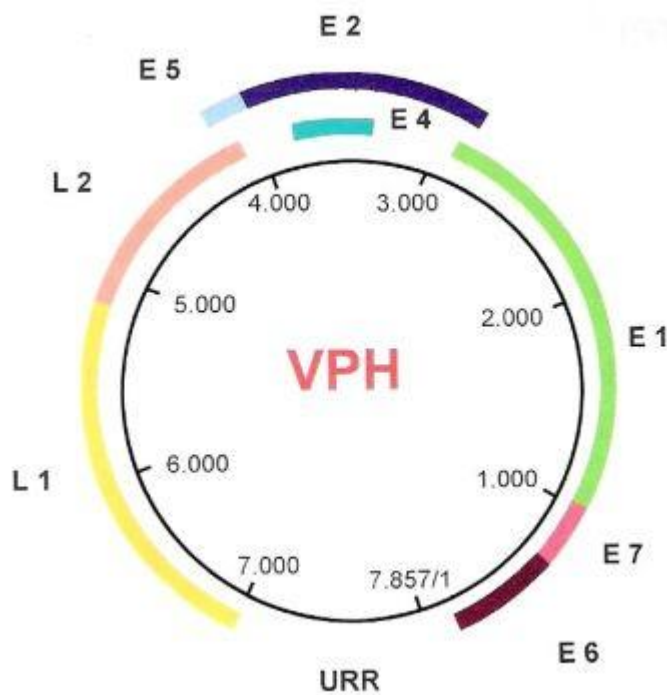


Figura 2. Mapa genético del papilomavirus tipo 16 (23).

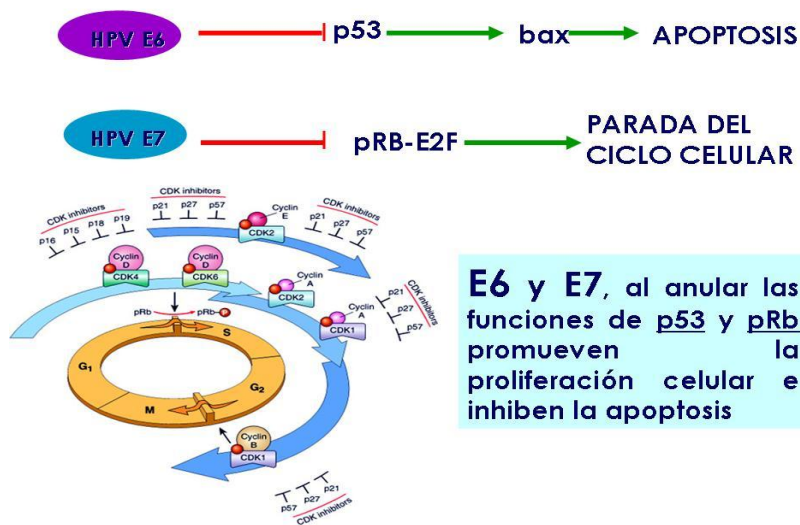


Figura 3. Funciones de E6-E7.

El genoma del VPH no codifica las enzimas necesarias para la replicación ni la transcripción de ADN viral, por lo que debe sostener la proliferación celular del huésped para poder replicarse.

2.3. Relación del VPH con la patología oncológica

Según su riesgo oncogénico los VPHs se clasifican (23) en VPH de bajo riesgo (VPH-BR) y VPH de alto riesgo (VPH-AR):

Alto Riesgo Oncogénico	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 y 82
Posible Alto Riesgo	26, 53 y 66
Bajo Riesgo Oncogénico	6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81 y CP6108

Tabla 1. Clasificación de los VPH en función de su riesgo de transformación neoplásica

En un meta-análisis de 85 estudios publicados hasta 2002 (24), se contabilizaron 10.058 casos de cáncer de cérvix. **Smith y colaboradores** (25) han actualizado este meta-análisis, incluyendo más de 14.500 casos procedentes de estudios publicados hasta enero de 2006. Los ocho tipos de VPH más comunes, por orden de prevalencia decreciente, son VPHs 16, 18, 33, 45, 31, 58, 52, y 35.

Los VPH 16 y 18 son los dos tipos más frecuentes, son los responsables del 70% de los casos de cáncer de cuello uterino a nivel mundial y los ocho tipos más comunes (VPHs 16, 18, 33, 45, 31, 58, 52, y 35) son los responsables del 89% de los casos a nivel mundial (25). La prevalencia relativa del VPH 18 es más importante en el adenocarcinoma que en el carcinoma escamoso (24).

2.4. Transmisión de la infección VPH.

El VPH se transmite con por contacto sexual, a través de erosiones mínimas de la piel y mucosas. El cuello del útero es especialmente vulnerable al contagio, probablemente a través del epitelio metaplásico de la unión escamoso-cilíndrica.

Las vías de transmisión genital, distintas al coito, son probables aunque menos comunes. El riesgo de transmisión por contacto digital-genital u oral-genital parece ser mínimo. Se ha descrito la trasmisión vertical de la madre al neonato, los datos disponibles sugieren que se trata de casos poco frecuentes y con pocas probabilidades de desencadenar una infección persistente.

Cofactores de adquisición de la infección por VPH

El riesgo de infectarse por el VPH está relacionado con el comportamiento sexual: edad del primer coito, número de compañeros sexuales y relaciones sexuales con compañeros que tienen o han tenido múltiples parejas sexuales.

- **Edad del primer coito:** las características histológicas de la zona de transformación escamoso-cilíndrica en el exocérnix de las mujeres jóvenes, pueden explicar el mayor riesgo de infección entre las mujeres que inician tempranamente la actividad sexual (26). La inmadurez cervical, las deficiencias

de flujo cervical protector y la ectopia cervical aumentada pueden conducir a una mayor susceptibilidad para la adquisición de una infección por el VPH en mujeres adolescentes y adultas jóvenes.

- **Número de compañeros sexuales:** La asociación entre el número de parejas sexuales y la probabilidad de detectar ADN del VPH en el tracto genital inferior es consistente. El tiempo que transcurre entre una pareja y otra, es otro factor influyente, ya que existe más riesgo de infección si el lapso de tiempo entre una pareja y otra es corto (27).
- **Otras Infecciones de transmisión sexual** como Chlamydias, herpes, VIH actúan como cofactores en el desarrollo de lesiones preneoplásicas y cáncer de cuello uterino. El VIH se asocia tanto a la prevalencia, como a la progresión de infecciones por VPH a lesiones neoplásicas del Tracto Genital Inferior (T.G.I.) y del canal anal. Las pacientes portadoras de VIH tienen más riesgo de infección por el VPH (RR: 17) y 9 veces más riesgo de desarrollar cáncer de cérvix. Es debido a las modificaciones que se producen en la inmunidad general y local de estas pacientes (28).
- La **circuncisión masculina** actúa como factor protector frente a la infección, se asocia con un menor riesgo de infección por VPH y con menor riesgo de transmisión y progresión a cáncer de cérvix en sus compañeras sexuales (29).
- El uso del **preservativo** durante el contacto sexual es una barrera que disminuye la posibilidad de contagio, pero no se previene por completo la transmisión del VPH (30).
- **Prácticas de sexuales de riesgo.**

2.5.Interacción virus-huésped

En la mayoría de las ocasiones, las partículas virales en la superficie del epitelio cervical o del tracto genital inferior son eliminadas durante la descamación propia del epitelio estratificado o por los agentes de la inmunidad inespecífica como los macrófagos.

El VPH es un patógeno intracelular estricto, por tanto, requiere internalizarse en la célula huésped para que se considere una infección verdadera

En el tercio inferior del epitelio tiene lugar la replicación de las células basales, cuya maquinaria utilizarán los VPH para su propagación. Este contacto se ve favorecido por los microtraumatismos y por las características del epitelio como son la ectopia y la metaplasia escamosa. A este nivel los agentes de inmunidad inespecífica, inflamatorios y los anticuerpos naturales, son capaces de eliminar la las partículas virales que colonizan el epitelio.

Una vez producida la infección de las células basales, los VPHs expresan sus genes de forma secuencial, primero los genes de expresión temprana (E1...E7) en las capas basales, que dan lugar a la proteínas E6-E7 que actúan como proteínas oncogénicas ya que bloquean a las proteínas de control celular, evitando la apoptosis. En las capas superiores, donde el epitelio es diferenciado, comienzan a expresarse los genes de las proteínas estructurales (L1 y L2) que permiten el ensamblaje viral (31).

VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (HPV):

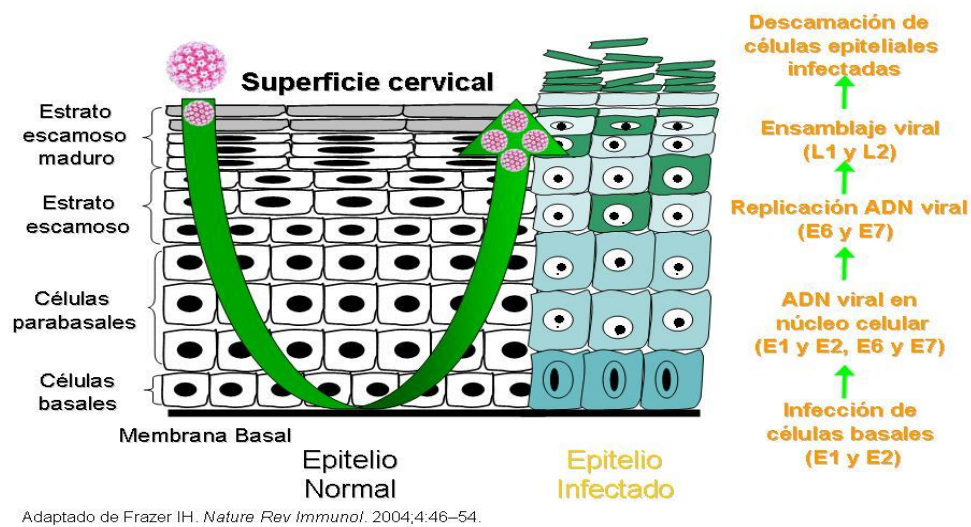


Figura 4. Infección por VPH

El virus también puede permanecer latente en las células basales del epitelio (32).

2.6. Historia natural de la Infección por VPH y Carcinogénesis

El curso habitual de la infección por el VPH tiende hacia la curación espontánea. Si la infección inicial no se resuelve y se hace persistente puede iniciarse un proceso de carcinogénesis que induce lesiones escamosas intraepileliales (SIL, CIN). Son consecuencia de sucesivas alteraciones genéticas, derivadas de la infección por VPHs-AR.

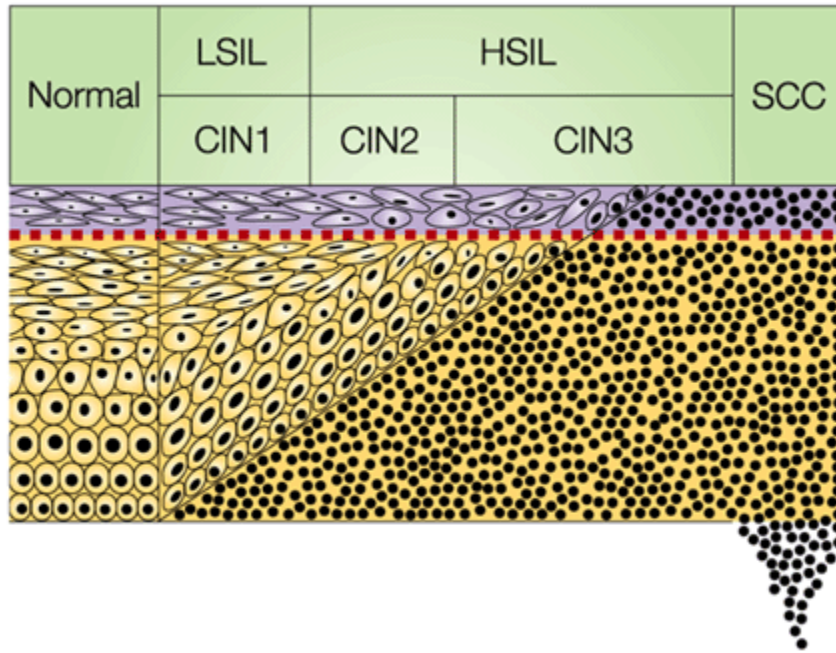


Figura 5. Esquema de la expresión morfológica de CIN y CEI (34)

Los estudios citopatológicos clasifican las Lesiones Intraepiteliales Escamosas (SIL, siglas en inglés de Squamous Intraepithelial Lesion) en dos grados, basándose en las recomendaciones realizadas en las reuniones de Bethesda del 1988, 1991 y 2001 (33):

- SIL de bajo grado (LSIL)
- SIL de alto grado (HSIL)

Los estudios histopatológicos, siguiendo la clasificación de la Organización Mundial de la Salud del 2003 (34) clasifican las lesiones como Neoplasia Intraepitelial Cervical (CIN, siglas en inglés) en tres grados: CIN 1, CIN 2, CIN 3.

En la siguiente figura se puede observar la secuencia temporal de la infección por el VPH (figura)

RELACIÓN ENTRE HPV-SIL-CARCINOMA

- **Secuencia temporal**

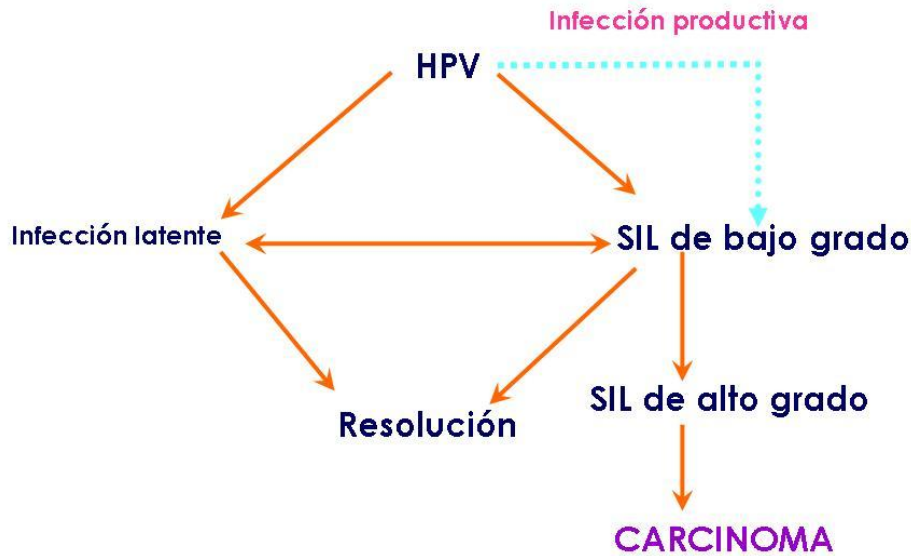


Figura 6. Secuencia temporal Infección viral-SIL-Carcinoma

El proceso de carcinogénesis del VPH es lento, con etapas bien definidas, este hecho ha sido la base del éxito de los programas de detección precoz o screening.

La lesión escamosa de bajo grado (LSIL) es consecuencia de la infección aguda por VPH. Un 25% de las mujeres infectadas por el VPH presentan LSIL. En ausencia de tratamiento, esta lesión remite a los 12 meses en un 61% en pacientes jóvenes y en 91% a los 36 meses (35). La probabilidad de remisión es menor en edades más avanzadas (36).

Ostor y colaboradores realizaron una revisión de la literatura de la infección por el VPH, en ella muestran que las lesiones CIN 1 remiten en el 60% de los casos, persisten en el 30%, progresan a CIN 3 en el 10% y a la invasión 1% (37).

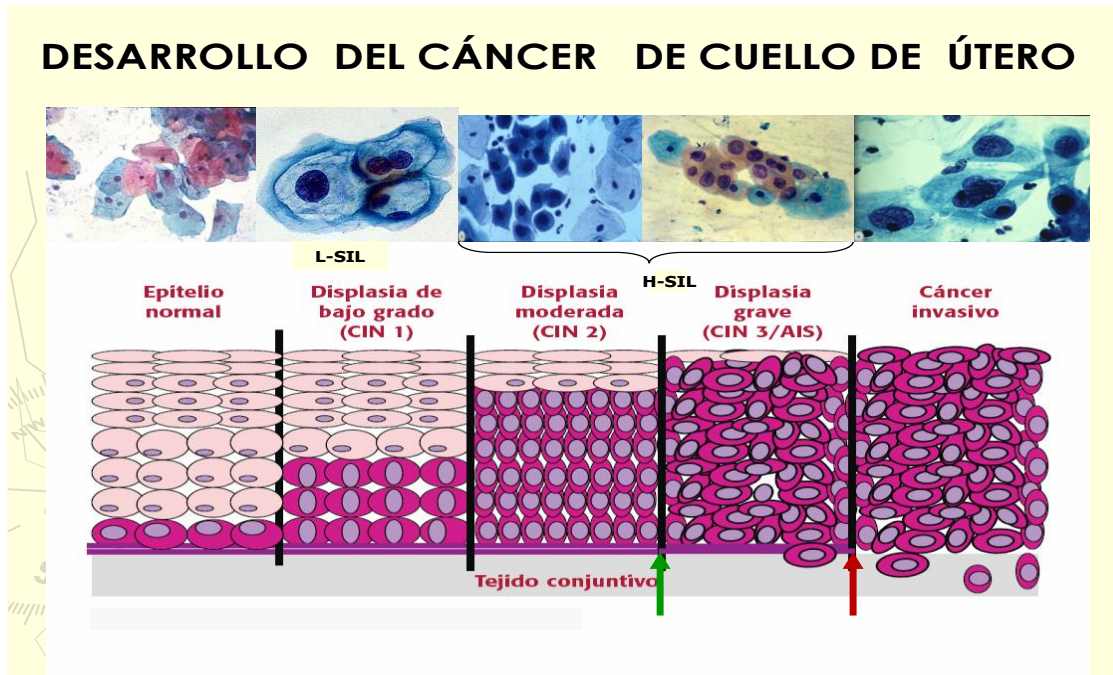


Figura 7. Carcinogénesis del cáncer de cuello uterino

La persistencia en el tiempo de la infección por VPH es un factor de riesgo demostrado y necesario para la transformación celular (38).

La duración media de la infección por VPH es variable, según los distintos estudios pueden oscilar desde 6 a 12 meses (39) y 24 meses (40). Por lo general, los virus de alto riesgo, tienen una persistencia de mayor duración que los de bajo riesgo (41).

La persistencia viral se define como detección del virus en dos o más determinaciones realizadas en un periodo de tiempo que oscila entre 1 y dos años. Numerosos estudios epidemiológicos y moleculares han evidenciado que la persistencia de la infección por tipos de VPH-AR es imprescindible para el desarrollo de lesiones intraepiteliales de alto grado con fenotipo neoplásico (HSIL: CIN2 y CIN3) y cáncer invasivo (42). La persistencia de infección cervical por un VPH oncogénico durante un año multiplica por 3 el riesgo relativo de desarrollar una lesión de alto grado.

La transformación tumoral requiere la evasión de la respuesta inmune, lo que conduce a la persistencia de la infección. La incapacidad del sistema inmune para

resolver la infección en un plazo de tiempo corto o medio, generalmente menor de dos años, aumenta las posibilidades de que exista un daño celular continuado y como consecuencia un proceso susceptible a la neoplasia.

La infección viral es causa necesaria, pero no suficiente, del cáncer de cuello uterino. La infección por VPH es muy frecuente en la población, la mayoría la aclaran y no progresan a cáncer de cérvix. Por tanto es necesario que intervengan co-factores en el proceso de carcinogénesis cervical, que modulan el riesgo de progresión de la infección por VPH a cáncer (43).

Los **Co-factores implicados en la carcinogénesis del VPH** se pueden clasificar en:

- **Cofactores medioambientales o exógenos:**
 - **Hábito tabáquico:** en mujeres infectadas por el VPH, el tabaco es el cofactor más importante de progresión, con un aumento del riesgo de 2-4 veces frente a las no fumadoras (44). El tabaco tiene un efecto carcinogénico directo y además produce alteración de la inmunidad local en el cuello uterino, esto contribuye a cronificar la infección.
 - **Anticonceptivos hormonales:** el consumo de contraceptivos hormonales durante cinco ó más años actúa como co-factor para padecer cáncer cervical, pues aumentan la expresión de E6 y E7 del VPH. Los estrógenos favorecen la proliferación de las lesiones ya establecidas. Los gestágenos pueden estimular la expresión viral. Los estrógenos y gestágenos de los contraceptivos inhiben la apoptosis a nivel cervical y modifican la respuesta inmunitaria local, lo que facilitaría la carcinogénesis, sobre todo si el consumo es superior a 10 años. El riesgo disminuye 8 años después de haberlos suspendido (43) (44) (45).
 - **Alta paridad:** estudios caso-control relacionan la alta paridad con CIN 3 y carcinoma de cérvix. Las modificaciones hormonales del embarazo, las modificaciones cervicales del parto podrían explicar esta asociación (44) (46).

- **Otras infecciones de transmisión sexual:** las infecciones de transmisión sexual (Chlamydias, herpes, VIH) actúan como cofactores en el desarrollo de lesiones preneoplásicas y cáncer de cuello uterino.

La infección por *chlamydia trachomatis* parece ser un cofactor en el desarrollo de lesiones preneoplásicas y cáncer del cuello uterino, cuyo mecanismo de acción es por inducción de inflamación crónica y metabolitos mutagénicos (47) (48).

Se ha demostrado la asociación de la seropositividad del Virus Herpes Simple tipo 2 (VHS-2) con un riesgo aumentado de cáncer de cuello de útero (49).

Las pacientes con VIH positivas tienen mayor riesgo de infección por VPH y de padecer cáncer cervical.

- **Factores nutricionales:** aunque la evidencia es muy limitada para establecer conclusiones firmes, se considera que la ingestión de alimentos antioxidantes, como frutas y vegetales se relacionan con la disminución del riesgo de padecer cáncer de cuello de útero. La asociación es más consistente sobre todo con la ingestión de vitaminas C, E, A y carotenos. La ingestión en la dieta de folatos, vitamina B6 y B12 pueden estar también implicados en la carcinogénesis cervical. No obstante no existen conclusiones definitivas que relación dieta, VPH y riesgo de cáncer de cuello de útero (50).

- **Cofactores virales:**

- **Genotipo viral:** es el factor de riesgo más importante de persistencia viral y de progresión hacia una lesión preinvasiva, siendo los genotipos 16 y 18 los que presentan un mayor riesgo de progresión (43). Los genotipos 16, 18 y 45, tienen una integración más efectiva en el genoma humano que otros genotipos, por lo que pueden desarrollar de forma más rápida lesiones de alto grado (51).

- **Variantes del VPH:** el reconocimiento de mínimas variaciones en la secuencia de bases del ADN del VPH ha permitido identificar las variantes. Las variantes del VPH16 muestran diferencias geográficas que se han relacionado con distintos riesgos de cáncer, y las variantes no europeas están asociadas con un mayor riesgo (52). Se sugiere que las variantes pueden influir en la historia natural de la infección por 2 mecanismos: diferencias en su capacidad funcional o evasión del sistema inmunitario del huésped. Dadas las diferencias geográficas, es posible que su papel en la persistencia y progresión esté relacionado con polimorfismos inmunogenéticos (53).
- **Carga viral.** La carga viral es un marcador de infección persistente. Se ha sugerido que una carga viral elevada indica una mayor posibilidad de integración del ADN viral en el genoma del huésped. Sin embargo, es discutible la utilidad de medir la carga viral para pronosticar la progresión a cáncer. En mujeres con infección por el VPH 16 o 18 y citología normal, una carga viral elevada, determinada por PCR en tiempo real, se asocia con mayor riesgo de progresión a CIN y cáncer (54) (55). La carga viral medida mediante HC2 muestra un incremento progresivo paralelo a la gravedad de la lesión (56). La presencia de cifras superiores a 100 URL se asocia con una lesión cervical en más del 90% de los casos, y esta asociación es prácticamente constante para cifras superiores a 1.000 URL. Por el contrario, un elevado porcentaje de casos con determinaciones inferiores a 10 URL no presentan lesión cervical. Sin embargo, la presencia de una baja carga viral no debe ser excluyente de una lesión grave (57).
- **Integración viral:** el riesgo de que se produzca, aumenta con una elevada carga viral. Sin embargo, algunos autores apoyan la idea de que el VPH16 es capaz de inducir la transformación maligna sin que haya integración, lo que indica que seguramente intervienen otros factores para que ocurra la transformación (58).
- **Coinfección:** es discutible si la coinfección con varios tipos virales

aumenta el riesgo de progresión. Algunos autores han evidenciado que la tasa de aclaramiento es independiente de la coinfección con otros tipos virales, al menos en mujeres inmunocompetentes (59). La evidencia más reciente apunta a que los genotipos que coinfectan el cérvix actúan de forma independiente en el desarrollo de las lesiones cervicales y que la vacunación frente a los tipos 16 y 18 no resultará en un cambio del potencial oncogénico de los VPH no incluidos en la vacuna. Son diversos los factores asociados a un mayor riesgo de adquirir una infección múltiple por VPH:

- Las mujeres jóvenes, menores de 30 años, tienen mayor riesgo de infección por varios tipos virales.
 - El comportamiento sexual es otro factor importante; la edad de inicio de las relaciones sexuales, el número de parejas sexuales y el comportamiento sexual de la pareja están asociados a un mayor riesgo de infección múltiple.
 - El estado inmunológico de la paciente también es relevante, pues el riesgo de coinfección por varios tipos virales es mayor en pacientes VIH.
 - El hábito tabáquico es otro factor influyente.
-
- **Cofactores del huesped:**
 - **Inmunosupresión:** La respuesta inmune está considerada como un potente mecanismo de resistencia frente al desarrollo de carcinomas, desde la fase de iniciación hasta el crecimiento y progresión de los mismos. La regresión de las lesiones inducidas por VPH están acompañadas de una reacción característica de hipersensibilidad retardada dependiente de linfocitos T auxiliares (Th), de acuerdo con lo publicado por la Agencia Internacional para Investigaciones sobre el Cáncer, 1997.

Las mujeres con inmunosupresión secundaria a la infección por VIH o trasplantadas con tratamiento inmunosupresor, tienen mayor riesgo de desarrollar carcinomas anogenitales asociados a VPH (60). En estas pacientes se ha comprobado a nivel cervical la disminución de linfocitos CD4 y la inversión CD4/CD8, así como la disminución de linfocitos natural killer. Dicha alteración de la inmunidad facilitaría la integración de ADN viral del VPH (45).

- **Hormonas endógenas**
- **Factores genéticos**

2.7.Oncogénesis por VPH.

La transformación tumoral de la célula tiene como base biológica la incapacidad de reparar los errores en la replicación del ADN mediante el bloqueo de proteínas del ciclo celular por los VPH de alto riesgo.

La presencia secuencias genómicas de los VPHs en el ADN de la célula es considerado por el sistema de control del ciclo celular como un evento irreparable y la célula infectada es conducida a la muerte celular por apoptosis. Las proteínas E6 y E7 del VPH-AR degradan, respectivamente a la proteínas del ciclo celular p53 y Rb. Con estas proteínas degradadas, la célula es incapaz de reparar los errores genéticos derivados de su replicación o de conducir a la célula a la apoptosis, como consecuencia se produce un estado celular de susceptibilidad a la transformación neoplásica.

De la capacidad de expresión de proteínas degradantes E6 y E7 de los VPHs, dependerá su capacidad de bloqueo de P53 y Rb, y esta expresión se verá modificada por factores como la carga viral, la integración del genoma viral en el genoma celular o cofactores medioambientales.

Se ha demostrado que la integración de secuencias genómicas del VPH en el ADN huésped, no es un factor necesario para la inducción de la transformación celular,

ya que en ausencia de esta integración es posible la transformación por mecanismos distintos de desregulación de la expresión de E6 y E7, e incluso la expresión basal de estas proteínas, en caso de elevadas cargas virales, puede ser suficiente para desencadenar el proceso de transformación neoplásica (61).

Sea por procesos de integración o por la intervención de rutas biológicas diferentes, la pérdida de E2, represor de la transcripción viral, da lugar a la expresión de los genes VPH E6 y E7, cuyas proteínas virales se expresan constantemente en los carcinomas cervicales.

Las oncoproteínas E6 y E7 actúan como modificadores de las mitosis, aumentando la probabilidad de adquirir mutaciones celulares adicionales que contribuyen a la progresión carcinogénica durante la división celular. Estas proteínas también se han implicado en la transición del epitelio al estroma y la angiogénesis (62).

Los tipos de alto riesgo oncogénico se diferencian de los de bajo riesgo en que las proteínas E6 y E7, tienen la capacidad de bloquear a las proteínas del ciclo celular p53 y Rb.

3. PREVENCIÓN DEL CÁNCER DE CUELLO UTERINO

3.1. Prevención secundaria del cáncer de cuello uterino

Las conclusiones de la Conferencia de cribado y diagnóstico precoz del cáncer de Viena en 1999, son recogidas por el Consejo de la Unión Europea. Sólo los carcinomas de cuello uterino, de mama y de recto-colon, son susceptibles de cribado (63).

El objetivo del cribado del cáncer de cérvix es la detección de las lesiones intraepiteliales de alto grado (CIN 2-3), cáncer microinvasor y AIS. Para conseguir una

disminución de la mortalidad, debe alcanzarse una cobertura mínima y continuada del 70% de la población.

Una técnica de cribado no es una técnica diagnóstica y debe cumplir los siguientes criterios: simple, aceptable, no dolorosa, segura, validada y barata.

3.1.1. Citología

La prevención secundaria del cáncer de cuello uterino se introdujo a mediados del siglo pasado, mediante la citología de Papanicolaou. En España fallecen 2 mujeres cada día por cáncer de cuello uterino, el 80% de las mujeres españolas que desarrollan un cáncer cervical es por no haber practicado un cribado citológico adecuado (64).

La citología ha demostrado su capacidad de reducir la tasa de cáncer de cérvix cuando se ha aplicado de forma programada, sistemática y continuada. Se basa en el principio de la exfoliación celular que presentan los diferentes tejidos del cuerpo humano. En condiciones de patología, la descamación es más intensa cuanto más inmadura es dicha lesión, ya que disminuyen la fuerzas de cohesión entre las células.

La citología de Papanicolaou consiste en la toma, observación e interpretación de una muestra de células del cérvix. Esta prueba detecta cambios inflamatorios, infecciosos o la presencia de células anormales y neoplásicas. De la citología cervical no debe esperarse un diagnóstico sino un resultado, normal o anormal. Las citologías anormales detectan mujeres potencialmente afectas de lesiones cervicales.

Es una técnica barata y de fácil ejecución.

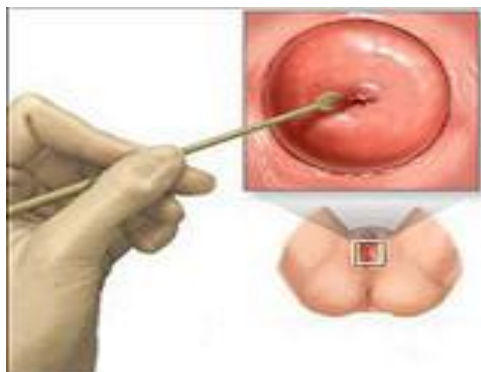


Figura 8. Citología cervical.

Los programas organizados de cribado poblacional mediante la citología han demostrado su efectividad al disminuir la incidencia y mortalidad por cáncer de cuello uterino en los países donde se han aplicado de forma masiva. En los últimos 50 años el cribado citológico ha reducido la morbi-mortalidad por cáncer cervical en un 75-80%, en los países donde se ha aplicado con una estrategia poblacional con cobertura suficiente y continuada (65).

La Unión Europea, la American Cancer Society (A.C.S.) (66) y el American College of Obstetrician and Gynecologist (A.C.O.G.) (67) recomiendan la citología como técnica de cribado para el carcinoma de cérvix, siendo su principal limitación su baja sensibilidad.

Las citologías deben ser interpretadas y por lo tanto están sujetas a error. Para hacer más homogénea la lectura, se han propuesto varios sistemas de clasificación. En la actualidad el más usado es la clasificación de Bethesda, elaborado en el año 2001 "The Bethesda System-2001" (33) en la que no sólo se clasifican los hallazgos sino que se requiere la valoración de la muestra, es decir, si es o no adecuada.

SISTEMA BETHESDA 2001 (modificado)

<p>IDONEIDAD DE LA MUESTRA</p> <p>Satisfactorio para la evaluación (se agrega un indicador de calidad: elementos de la ZT, flora, etc.)</p> <p>Parcialmente satisfactorio para evaluación por (se especifica la causa: artefactos, ausencia elementos epiteliales de la ZT...).</p> <p>Insatisfactoria para evaluación (se especifica la causa).</p> <p>RESULTADO/INTERPRETACIÓN</p> <p>Negativa para lesiones intraepiteliales o malignidad</p> <p>MICROORGANISMOS Trichomonas vaginalis Organismos fúngicos compatibles morfológicamente con Cándida. Cambios en la flora sugestiva de vaginosis bacteriana. Bacterias morfológicamente compatibles con Actinomyces. Cambios celulares asociados con el virus herpes simple.</p> <p>OTROS CAMBIOS NO NEOPLÁSICOS: Cambios reactivos asociados con: Inflamación (incluye reparación típica). Radiación. Dispositivo intrauterino (DIU). Células glandulares post-histerectomía. Atrofia.</p>	<p>RESULTADO/INTERPRETACIÓN (CONT)</p> <p>Anomalías celulares epiteliales</p> <p>- CÉLULAS ESCAMOSAS</p> <p>*Células escamosas atípicas: de significado incierto (ASC-US). no es posible excluir HSIL (ASC-H).</p> <p>*Lesión Intraepitelial Escamosa de Bajo Grado (LSIL): VPH y displasia leve / CIN 1.</p> <p>*Lesión Intraepitelial Escamosa de Alto Grado (HSIL): displasia moderada, severa, CIS / CIN 2 y CIN 3</p> <p>*Carcinoma de células escamosas.</p> <p>- CÉLULAS GLANDULARES</p> <p>*Células glandulares atípicas: endometriales, endocervicales, NOS.</p> <p>*Células glandulares atípicas probablemente neoplásicas: Endocervical, NOS. Adenocarcinoma endocervical in situ. Adenocarcinoma</p> <p>Otros</p> <p>-Células endometriales en mujer ≥ 40 años.</p> <p>TÉCNICAS AUXILIARES: (p.ej. HPV).</p> <p>RECOMENDACIONES: (opcional).</p> <p>NOTAS Y SUGERENCIAS (opcional)</p>
---	---

Tabla 2. Sistema de clasificación Bethesda

La verdadera innovación de esta clasificación consiste en considerar a las alteraciones celulares por VPH como lesiones intraepiteliales de bajo grado (LSIL), displasia leve o CIN 1, además de unificar bajo el término de lesiones intraepiteliales de alto grado (HSIL) a las displasias moderadas y severas, CIN 2 y CIN 3 o carcinoma “in situ”.

Según los últimos estudios de los laboratorios europeos y norteamericanos (68), la sensibilidad de la citología para detectar CIN2+ es muy variable con una media del 53%, con un rango del 18,6% al 76,7%. La sensibilidad depende de la calidad de la muestra obtenida en la unidad de toma y de la lectura e interpretación subjetiva en el laboratorio. La repetición periódica del cribado citológico puede corregir este déficit.

La especificidad de la citología es baja, debido al elevado número de lesiones de bajo grado que requieren estudio diagnóstico o seguimiento.

Han surgido técnicas alternativas para mejorar la sensibilidad de la citología:

- **Pruebas citológicas automatizadas:** los más conocidos son el AutoPap® y el PapNet®, ambos consisten en un sistema computerizado para la lectura de citologías, previamente evaluadas de forma manual. Esta técnica posee una alta sensibilidad (96%), además de reducir la carga de trabajo en el laboratorio. Por el contrario, añade un coste económico adicional y se ha mostrado muy poco sensible para reconocer células endocervicales (69).
- **Citología en Medio Líquido:** las células exfoliadas se suspenden y fijan en un medio líquido, eliminando artefactos. Permite una mejor y más cómoda lectura del extendido evitando los “no valorables”. Una revisión sistemática de los trabajos publicados, realizada por Arbyn et al. (70) ha concluido que la citología en medio líquido no mejora la sensibilidad de la citología convencional. Su principal ventaja es poder utilizar el medio conservante para análisis moleculares, como el ADN de VPH.

3.1.2. Alternativas al cribado citológico

Existen tres tipos de pruebas para el uso clínico:

- Análisis del ADN de los VPH-AR, mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) o captura híbrida (HC2).
- Análisis de proteínas oncogénicas (ARNm, p16INK4a).
- Nuevos marcadores moleculares, como la tinción dual p16/ki-67.

A. Análisis del ADN de VPH-AR

- **Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)**

Utiliza pequeñas sondas de ADN que localizan específicamente secuencias de ADN viral denominadas cebadores o primers. Permite la amplificación en cadena de la región de interés, por tanto, combina la especificidad de la unión de los dos primers y la sensibilidad que resulta del proceso de amplificación. Identifica el tipo de virus.

- **Captura híbrida (HC2):** se utilizan sondas de ARN marcadas que tienen la capacidad de hibridar con el DNA viral. La más comercializada es el test Hybrid Capture 2, que permite detectar 5 tipos de VPH-BR (6,11,42,43,44) y 13 tipos VPH-AR (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68), aunque en la práctica clínica sólo se usa la sonda de alto riesgo.

Los dos test de ADN-VPH han mostrado una sensibilidad clínica del 90-95% para CIN2+ (71), (72). Sin embargo tienen una baja especificidad, ya que la prevalencia del VPH en mujeres jóvenes puede llegar a ser de hasta un 30%. En un estudio prospectivo realizado por Snijders y colaboradores (73) usando el test PCR GP5+/6+, sólo el 8% de las mujeres VPH positivas con citología normal desarrollaron la enfermedad a los 4 años.

Ante un resultado positivo del test de ADN-HPV, el riesgo de desarrollar CIN3 o cáncer está relacionado con el tipo de VPH, a los 10 años el riesgo es del 22% y del 17% para el VPH 16 y 18 respectivamente (74).

El test de ADN-VPH proporciona un resultado objetivo, altamente reproducible, de fácil automatización y monitorización, tienen mayor sensibilidad que la citología y mayor valor predictivo negativo. Sin embargo es menos específico que la citología y no distingue entre infección transitoria y persistente.

La aplicación de estas técnicas han demostrado efectividad para:

- Test de cribado primario, junto con la citología o único, utilizando la citología en los casos de VPH positivo.
- Selección de mujeres con citología AS-CUS.
- Mujeres postmenopáusicas con L-SIL.
- Seguimiento de pacientes con LSIL.
- Control de curación tras tratamiento de CIN.

B. Análisis de las proteínas oncogénicas

• P16INK4a(p16)

Es una proteína inhibidora de la quinasa, dependiente de ciclina que muestra una marcada sobre-expresión en el tejido cervical precanceroso y canceroso. La proteína retinoblastoma (Rb) en condiciones normales se une al factor de transcripción E2F, bloqueando la transcripción de los genes que estimulan la progresión del ciclo celular y su proliferación. También la codificación del gen para el inhibidor de la quinasa dependiente de ciclina p16. Por tanto la unión del factor de transcripción E2F por la proteína Rb es uno de los mecanismos de control fundamentales para prevenir la replicación y proliferación continua de las células.

La sobre-expresión de la proteína celular p16 permite identificar las células con cambios displásicos en proceso de oncogénesis cervical inducida por VPH-AR.

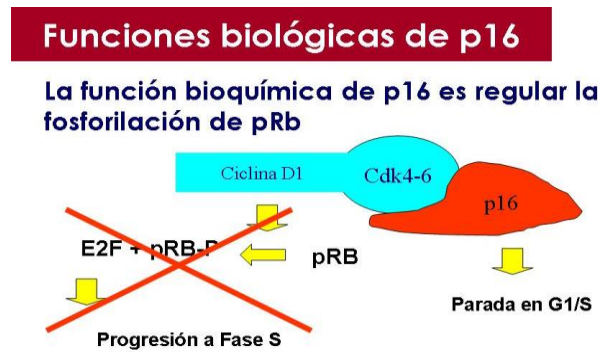


Figura 9. Función de p16

Los resultados de varios estudios indican que la tinción inmuno-histoquímica para p16 reduce los diagnósticos falsamente negativos, mejorando de forma significativa el diagnóstico de las lesiones premalignas del cérvix uterino (75) (76).

C. Nuevos marcadores moleculares: tinción dual p16/Ki-67

La proteína Ki-67 es un marcador celular asociado con la proliferación celular. La detección simultánea de p16y Ki-67 en una misma célula indica desregulación del ciclo celular por infección por VPH-AR.

La tinción dual tiene una mayor sensibilidad que la citología, similar a la sensibilidad de los tests de VPH, pero con un significativo aumento de la especificad. Es independiente de la edad de la paciente o del tipo de VPH (77).

Los últimos resultados de esta técnica acaban de ser comunicados en el último Congreso Europeo de Citología, celebrado en Edimburgo en mayo 2010, donde se dieron a conocer los resultados del estudio multicéntrico P.A.L.M.S. (78) y el E.E.M.A.P.S. (79), aportando las siguientes conclusiones:

- Es más sensible que la citología en el cribado del cáncer de cérvix (sensibilidad del 90.2 % y especificidad del 95.3 %).
- Reduce el porcentaje de ASC-US y el número de colposcopias y citologías en un 75%.

3.1.3. Protocolo de cribado de cáncer de cérvix

Primera citología

3 años después del primer coito, o a los 25 años de edad en mujeres sexualmente activas.

↓

Citología anual durante dos años

Si ambas son negativas → Repetir cada 3 años.

≥ de 35 años
↓

Citología y ADN-VPH

Ambos negativos ↓ Citología y VPH/5 años. ↓ Fin del cribado 65 años

citología(-) y VPH(+) ↓ Citología y VPH al año

citología (+) ↓ protocolo de citología anormal

En mujeres VIH positivas o inmuno-deprimidas la citología se repite cada año (81).

No obstante, en el año 2010 este protocolo fue modificado, con la intervención de la SEGO, AEPCC, SEC y SEP (82).

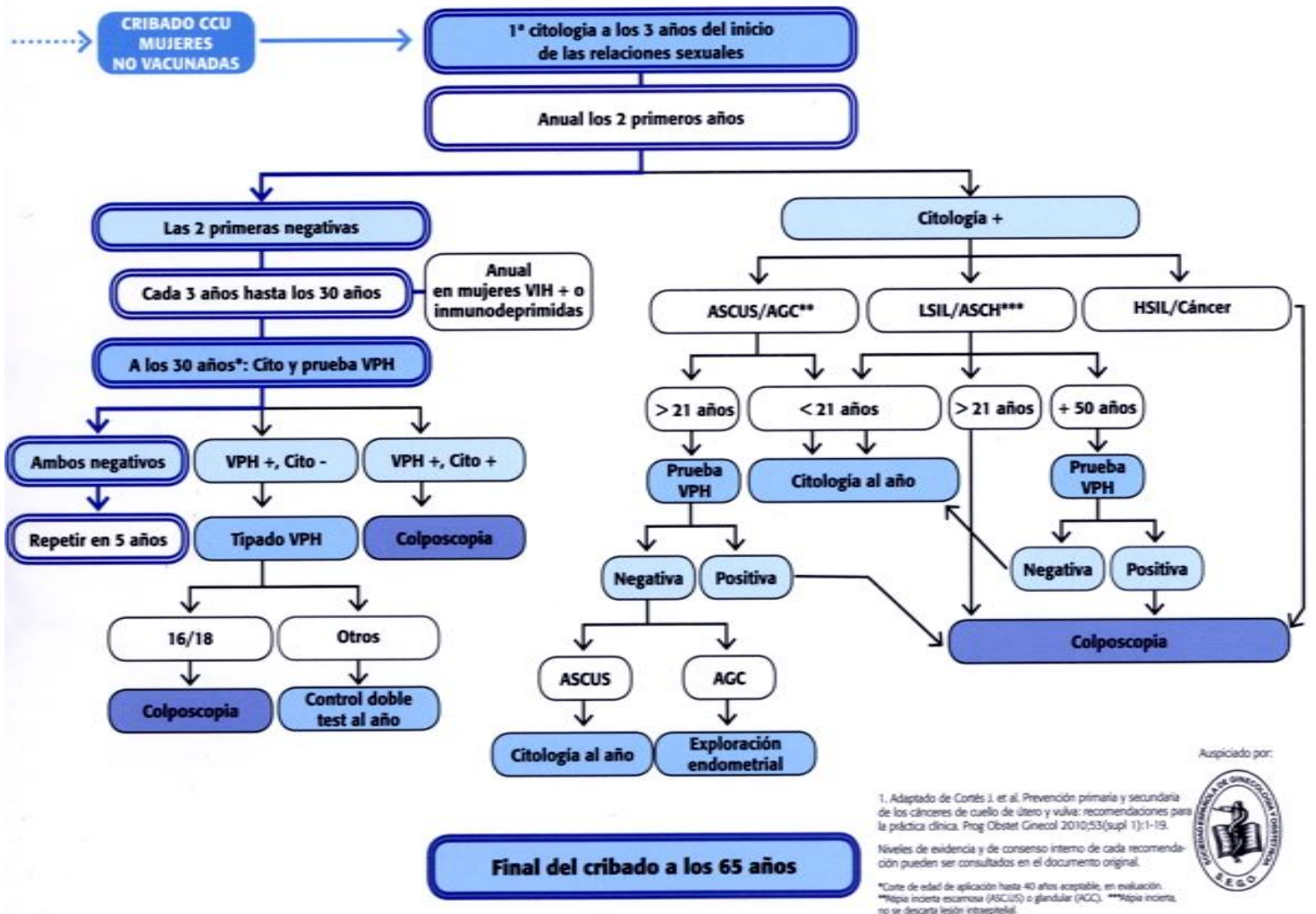


Figura 10. Recomendaciones de la SEGO 2010 para el cribado poblacional en mujeres no vacunadas

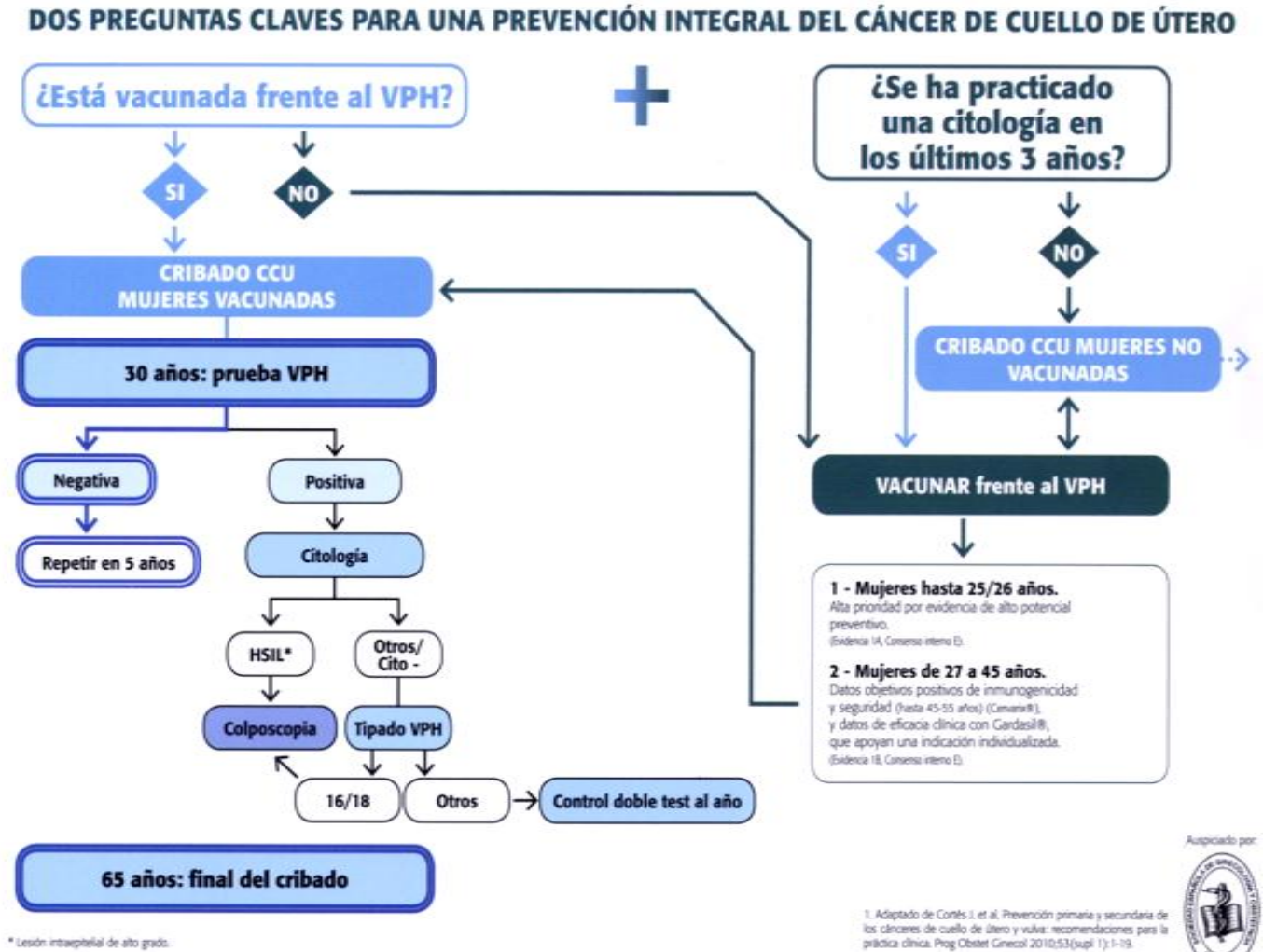


Figura 11. Recomendaciones de la SEGO 2010 para *screening* poblacional en mujeres vacunadas.

Estas modificaciones en el cribado se basan fundamentalmente en:

- A partir de los 30 años de edad el cribado del cáncer de cérvix se realiza con la citología y con el test VPH. Debido a la baja especificidad del test VPH para CIN2+ en las mujeres jóvenes no debe hacerse antes de los 30 años. Sin embargo a partir de dicha edad, es el test VPH se ha mostrado más específico y esto permite disminuir el número de colposcopias y el seguimiento clínico (83).

- En pacientes menores de 21 años con diagnóstico citológico de ASCUS, ASCH o LSIL se repite la citología al año, dada la alta prevalencia de infección transitoria por VPH en los primeros años de vida sexual. En la revisión realizada por **Blade y colaboradores**, no se ha encontrado ningún caso de carcinoma invasivo en mujeres de 25 años o menores, y en ellas la tasa de CIN2-3 es también muy baja (84).

Según **Goldie y colaboradores** (85) tiene menor coste y es más eficaz la vacunación frente al VPH 16-18, antes de los 26 años y comenzar el cribado del cáncer de cérvix a los 30 años de edad, mediante la citología y el test de VPH con una periodicidad de 5 años, que no vacunarse y comenzar el cribado a los 21 años y repetir citologías anualmente.

3.1.4. COLPOSCOPIA

Esta técnica consiste en la visualización del tracto genital mediante un microscopio binocular con una potente fuente de luz centrada sobre el campo de exploración. Fue creada y desarrollada por Hans Hinselman (Hamburgo-1925).

Permite identificar la topografía y extensión de las lesiones precancerosas, localizar las áreas más sospechosas donde practicar la toma de biopsia y planificar un tratamiento efectivo. Requiere una buena formación y experiencia del especialista. Es una prueba muy sensible para la detección de las lesiones precursoras del cáncer de cérvix, sin embargo es poco específica, pues no siempre las imágenes colposcópicas anormales corresponden a lesiones intraepiteliales.

Conocer las características colposcópicas del cuello uterino normal y poder identificarlas sientan las bases para diferenciar los resultados colposcópicos normales de los anormales. El concepto anatómico más importante es la zona de transformación, si no se puede identificar adecuadamente toda la zona de transformación, el examen colposcópico se considerará insatisfactorio.

La clasificación de los hallazgos colposcópicos vigente actualmente es la ratificada por el Comité de Nomenclatura de la Federación Internacional de Patología Cervical y Colposcopia (IFCPC) en su XI Congreso de Barcelona 2002 (86). Los hallazgos colposcópicos son clasificados en:

- Hallazgos colposcópicos normales.
- Hallazgos colposcópicos anormales.
- Características colposcópicas sugestivas de lesión de bajo grado (cambios menores).
- Características colposcópicas sugestivas de lesión de alto grado (cambios mayores).
- Características colposcópicas sugestivas de cáncer invasivo.
- Colposcopia insatisfactoria (cuando la unión escamoso-columnar no es visible, la asociación con trauma, inflamación o atrofia que impida valorar, no visualización del cuello uterino).
- Hallazgos misceláneos, como condilomas, erosión, pólipos, etc.

El comité de nomenclatura de la IFCPC constituido en el congreso mundial que se celebró en el 2008 en nueva Zelanda recibió el encargo de revisar y actualizar la clasificación colposcópica actualmente vigente y aprobada en Barcelona durante el congreso del 2002. La propuesta de clasificación fue aprobada en julio 2011 por el Board de la IFCPC y por la asamblea general celebrada durante el XIV congreso Mundial de Patología cervical y colposcopia de la IFCPC celebrado en Rio de Janeiro.

Nomenclatura IFCPC 2011¹
Aceptada en el Congreso Mundial de Río, 5 de Julio, 2011

Terminología colposcópica del cuello uterino de IFCPC 2011¹			
Evaluación General		<ul style="list-style-type: none"> Adecuada/inadecuada a causa de ... (por ej.: cuello uterino no claro por inflamación, sangrado, cicatriz) Visibilidad de la unión escamocolumnar: completamente visible, parcialmente visible, no visible. Tipos de zona de transformación 1,2,3	
Hallazgos colposcópicos normales		Epitelio escamoso original: <ul style="list-style-type: none"> Maduro Atrófico Epitelio columnar <ul style="list-style-type: none"> Ectopía Epitelio escamoso metaplásico <ul style="list-style-type: none"> Quistes de Naboth Aberturas glandulares y/o criptas glandulares Deciduos en el embarazo	
Hallazgos colposcópicos anormales	Principios generales	Ubicación de la lesión: dentro o fuera de la zona de Transformación, ubicación de la lesión según las agujas del reloj. Tamaño de la lesión Número de cuadrantes del cuello uterino que cubre la lesión, tamaño de la lesión en porcentajes del cuello uterino.	
	Grado 1 (Menor)	Epitelio acetoblanco delgado. Borde irregular	Mosaico fino, Puntillado fino
	Grado 2 (Mayor)	Epitelio acetoblanco denso, Aparición rápida de epitelio acetoblanco. Orificios glandulares abiertos con bordes engrosados.	Mosaico grueso, Puntillado grueso. Bordes delimitados, Signo del límite del borde interno, Signo de cresta o sobrelevado.
	No específicos	Leucoplasia (queratosis, hiperqueratosis), Erosión Solución de Lugol (Test de Schiller): positivo/negativo	
Sospecha de invasión		Vasos atípicos Signos adicionales: Vasos delgados, superficie irregular, lesión exofítica, necrosis, ulceración (necrótica), tumoración nodular.	
Hallazgos varios		Zona de transformación congénita, Condiloma, Pólipo (exocervical /endocervical) Inflamación,	Estenosis, Anomalía congénita, Anomalías post tratamiento, Endometriosis

Figura 12. Terminología colposcópica del cuello uterino de IFCPC 2011

Terminología colposcópica del cuello uterino – apéndice de IFCPC 2011 ¹	
Tipos de tratamiento de escisión	Tipo de escisión 1,2,3
Medidas de la muestra de escisión	Largo – distancia del margen distal/externo al margen proximal/interno Grosor – distancia del margen estromal a la superficie de la muestra extirpada Circunferencia (Opcional)- el perímetro de la muestra extirpada.

Figura 13. Terminología colposcópica del cuello uterino-apéndice de IFCPC 2011

1. Aplicación de ácido acético

Tras la aplicación de ácido acético al 3-5%, las áreas de alta densidad nuclear impiden el paso de la luz a los vasos del estroma y reflejan un color blanco, este efecto se puede producir en:

- Paraqueratosis.
- Hiperqueratosis.
- Acantosis.
- Aumento de la densidad nuclear (lesiones preneoplásicas).
- Infiltración inflamatoria.

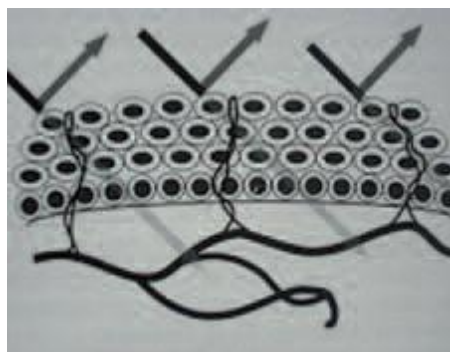


Figura 14. Lesión premaligna con epitelio de alta densidad nuclear.

Epitelio acetoblanco:

- Se clasifica como **cambio menor** si la superficie acetoblanca es débil, tenue, plana, no sobreelevada, con bordes irregulares, poco definidos o geográficos. Preferentemente se localizará en zonas alejadas del canal cervical, y serán lesiones poco extensas. Este patrón colposcópico suele corresponder a zonas de metaplasia o lesiones bajo grado.
- Se considera **cambio mayor** el epitelio acetoblanco denso, que aparece pronto y desaparece tarde, con un borde bien definido, con superficie sobreelevada o rugosa y los márgenes abruptos con el tejido circundante sano.

Mosaico: es un epitelio, habitualmente acetoblanco, en forma de celdas delimitadas por bordes rojizos que se corresponden a vasos atrapados en el epitelio displásico.

- Los **cambios menores** se caracterizan por un mosaico fino, con losetas pequeñas, de similar tamaño y bajo relieve. Los vasos son regulares y finos. Histológicamente corresponden a metaplasia escamosa con paraqueratosis o a lesión de bajo grado.

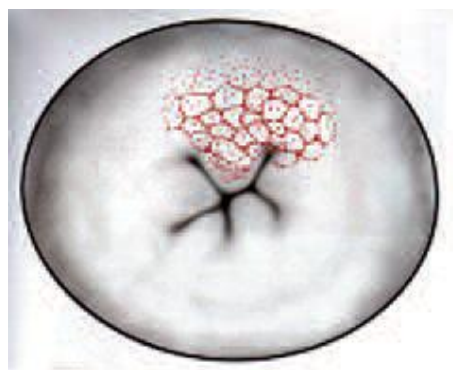


Figura 15. Cambios menores

- En los **cambios mayores** el mosaico es grosero, con losetas mayores, de diferente tamaño y grosor, haciendo relieve sobre un epitelio normal. Corresponden a lesiones de alto grado.

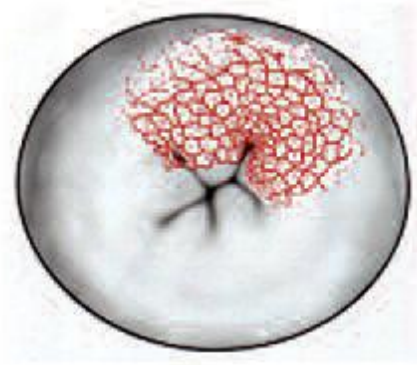


Figura 16. Cambios mayores

Punteado

- Los **cambios menores** se caracterizan por un punteado fino, distribuido de forma regular con un calibre pequeño y sin relieve sobre un epitelio acetoblanco. Histologicamente pueden corresponder a metaplasia o lesión de bajo grado.
- Los **cambios mayores** son un punteado grueso más sinuoso, irregulares y con relieve, con sangrado fácil al contacto y mayor distancia intercapilar. Suele traducir lesión de mayor grado.

Vasos atípicos: son vasos dilatados con imágenes de ‘stop’ adoptando múltiples formas. El mejor momento para observarlos es antes de la aplicación de acético con filtro verde, ya que éste puede enmascarar total o parcialmente los cambios, en especial en zonas acetoblancas.

2. Test de Schiller

Tras la aplicación de la solución yodoyodurada de lugol (test de schiller), el epitelio escamoso maduro, que tiene glucógeno, se tiñe de color marrón oscuro. Las zonas yodonegativas o schiller positivas son epitelios sin glucógeno y corresponden a zonas de metaplasia, CIN o bajo nivel estrogénico (atrofia e hipotrofia).

Otras características:

- **Topografía:** las lesiones centrales, en contacto o por dentro de la línea de transformación son más características de lesiones de mayor grado que las lesiones periféricas (87).
- **Extensión:** a mayor tamaño mayor posibilidad de lesión de alto grado, con un riesgo relativo de 3.91 para CIN 2-3 si ocupa más del 75% (87). Se puede estimar su tamaño en función de los cuadrantes afectados o el porcentaje de afectación (<25%, 25-50%, 50-75%, >75%).
- **La coexistencia de características anormales** distintas puede aumentar la probabilidad de que haya una lesión (88).

Las características sugestivas de **cáncer invasor** son la existencia de:

- superficie irregular, erosionada o ulcerada
- congestión vascular y tendencia a hemorragia con la manipulación
- cambio acetoblanco denso
- punteado o mosaico extenso e irregular
- presencia de vasos atípicos.

En las pacientes con edad cercana a la menopausia, durante la lactancia o bajo tratamiento con gestágenos, la zona de transformación es con más frecuencia de tipo 3 (de localización endocervical) y las lesiones pueden ser menos visibles. Por tanto, si existe una citología alterada o hay sospecha de lesión cervical, se debe realizar un estudio del endocervix (89).

Durante el embarazo y en pacientes que toman estroprogestágenos hay

frecuentes procesos de metaplasia y reparación (cambios menores) que pueden parecer patológicos. La ectopia es más frecuente y la zona de transformación tipo 3 es

rara. Las lesiones suelen mostrarse en el ectocérvix (89).

3.1.5. **ESTUDIO HISTOLÓGICO**

- **Biopsia**

La combinación de la colposcopia y de la biopsia dirigida se considera el “Gold Standard” para el diagnóstico de la neoplasia intraepitelial y el cáncer de cuello uterino (90).

Estudio del endocérvix

El estudio endocervical se realiza mediante microlegrado o mediante un cepillo endocervical para hacer un frotis citológico. La localización endocervical de las lesiones intraepiteliales, fuera del alcance de la visión, es la causa más frecuente de falsos negativos de la colposcopia o de las discordancias diagnósticas entre las distintas técnicas.

- **Conización**

Este procedimiento tiene una intención dual, tanto diagnóstica como terapéutica, en la mayoría de los casos.

3.2.PREVENCIÓN PRIMARIA FRENTE AL CÁNCER DE CUELLO DE ÚTERO.

El cáncer de cérvix, no es más que, el resultado final de una infección venérea no resuelta y, por tanto, la vacunación es una estrategia fundamental en la prevención primaria de los cánceres y patologías asociadas a la infección por VPH.

La vacunación frente al VPH cuenta con evidencias de alto nivel que confirman su seguridad y eficacia. Su aplicación a niñas preadolescentes y a mujeres hasta los 26 años es una recomendación firme. De los genotipos que infectan el tracto anogenital, se estima que el VPH 16 y 18 causan el 70% de los cánceres de cérvix y los VPH 6 y 11 más del 90% de las verrugas genitales (91).

Los ensayos clínicos con dos prototipos de vacunas profilácticas han demostrado su eficacia en la prevención de infecciones cervicales incidentes, transitorias y persistentes causadas por los VPH 16 y 18, así como las alteraciones citológicas y las lesiones cervicales asociadas a dichos virus.

3.1.6. Partículas similares al virus: VLP (virus like particles)

Las vacunas profilácticas utilizan como inmunógenos los antígenos de la cápside. Mediante ingeniería genética y sistemas de recombinación, utilizando células eucariotas a las que se les ha insertado un fragmento de DNA, se sintetizan proteínas del antígeno mayor de la cápside L1 que poseen la capacidad intrínseca de autoensamblaje, formándose partículas semejantes a virus o pseudovírica denominadas VLP. Las VLPS están desprovistas de ADN, por lo que carecen de capacidad infectiva, pero son antigénicamente semejantes a los viriones y resultan ser altamente inmunogénicas cuando son presentadas al sistema inmunitario. Al no contener material genético, no pueden causar infección en el huésped.

3.1.7. Vacunas VPH-VLP L1

Existen dos modelos de vacuna que se han evaluado comercialmente, la vacuna bivalente frente a VPH 16 y 18, Cervarix® (Laboratorios GlaxoSmithKline) y la tetravalente frente a VPH 6, 11, 16 y 18, Gardasil® (laboratorios Merk. SanofiPasteur/MSD). Estas dos vacunas son diferentes en cuanto a su composición, carga antigénica, el adyuvante y el sistema de expresión y conformación de las VLP (92).

Características	Vacunas	
	Bivalente	Tetravalente
Laboratorio	GlaxoSmithKline	Merk. SanofiPasteur/MSD
Nombre comercial	Cervarix®	Gardasil®
Principio activo	VPLs: 16, 18 (20, 20 microgr.)	VPLs: 6, 11, 16, 18 (20, 40, 40, 20 microgr.)
Sistema de expresión de la proteína L1	Baculovirus que utiliza células Hi-5 Rix4446 derivadas de Trichoplusia ni.	Saccharomyces cervisiae CANADE 3C-5 (Cepa 1895).
Adyuvante	Formulación ASO4: 500microgr de hidróxido de aluminio y 50 de monofosforil lípido A.	225microgr de hidroxifosfato sulfato de aluminio amorfo.

**Tabla 3. Composición de las vacunas frente a VPH actualmente disponibles en España.
Adaptado de Cortés J et al (92)**

Ambas vacunas muestran una elevada inmunogenicidad, más de 40 veces los títulos de anticuerpos alcanzados por la infección natural, con tasas de de seroconversión cercanos del 100 %. El título de anticuerpos presenta un acmé tras la tercera dosis vacunal, al séptimo mes, con un descenso progresivo hasta los 18 meses, estabilizándose posteriormente, en un nivel superior al obtenido mediante la infección natural. Este hecho es relevante ya que el título de anticuerpos inducidos por la infección natural, en ocasiones, no asegura protección frente a nuevas infecciones.

La calidad de la respuesta inmune generada por las VLPs implica el mantenimiento del elevado título de anticuerpos a lo largo del tiempo.

Dichas vacunas frente al VPH inducen concentraciones elevadas de anticuerpos neutralizantes que migran desde el suero hasta la mucosa cervico-vaginal mediante trasudación o exudación, obteniendo así niveles de anticuerpos lo suficientemente elevadas en el cuello del útero como para prevenir la infección (93). No se conoce el nivel mínimo de anticuerpos que resulta protector, pero a mayor título y persistencia de anticuerpos, mayor será la protección a largo plazo (94).

Recomendaciones de vacunación frente al VPH:

1. **Niñas de 9 a 14 años:** máxima prioridad por su máximo potencia preventivo (Evidencia 1A):
 - a. Elevada inmunogenicidad en este rango de edad, mayor que en edades posteriores.
 - b. No exposición previa al VPH y, por tanto, máximo potencial preventivo.
 - c. Alto riesgo de adquisición precoz de VPH desde el inicio de la actividad sexual.
 - d. Mayor riesgo de lesiones cancerígenas cuanto más precoz es la exposición al VPH.
 - e. Mayor accesibilidad y mejor cumplimiento de la pauta vacunal.
2. **Mujeres hasta los 25/26 años:** alto potencial preventivo (Evidencia 1ª)

3. **Mujeres de 27 a 45 años:** indicación individualizada.
4. **Varones:** indicación individualizada.

En la infección natural por VPH, la inmunidad humoral inducida es tipo-específica. La protección cruzada de las vacunas frente a otros genotipos de VPH no incluidos en su composición se fundamenta en la relación filogenética que existe entre los distintos tipos de VPH, esto supone un incremento adicional de la eficacia en la reducción del número de carcinomas, en aproximadamente un 11-16%, respecto a la protección conferida únicamente por tipos de VPH incluidos en la vacuna. En el caso de Gardasil®, se ha demostrado protección significativa frente a CIN 2+ causado por VPH 31 (70%), y también por VPH 31/54 (59%) (95) (96). En el caso de Cervarix®, se ha demostrado protección cruzada significativa frente a CIN 2-3 causados por VPH 31 (100%), VPH 33 (72,3%), no significativa para el VPH 45 (97). El impacto de la protección cruzada en la práctica clínica, es decir la eficacia en la prevención de CIN 2+, causado por cualquier tipo de VPH en los programas de vacunación organizados, se ha estimado en 70,2% para Cervarix® (98) y en 42,7% para Gardasil® (99). La eficacia de ambas vacunas para tipos VPH-AR no incluidos confiere una protección adicional, lo que se traduce en un incremento de protección frente al cáncer de cérvix del 11-16% respecto a la protección conferida únicamente por los tipos de VPH incluidos en la vacuna.

Las vacunas frente al VPH actualmente disponibles han demostrado una elevada eficacia profiláctica, $\geq 95\%$ especialmente en mujeres no expuestas. Dichas vacunas no han demostrado valor terapéutico.

La instauración de programas de vacunación con buenos niveles de cobertura no permitirá prescindir de los programas de cribado del cáncer de cuello uterino la principal razón es que la vacuna no protege contra todos los VPHs oncogénicos. Además los programas de vacunación se dirigen preferentemente a mujeres jóvenes, por tanto se debe de mantener la estructura del cribado. Las recomendaciones publicadas en España con respecto a la vacunación frente al VPH no han tenido el seguimiento

esperado en su aplicación clínica. En Andalucía se ha observado que el porcentaje de mujeres vacunadas, hasta el 2010, no llegaba al 10% (100).

Las mujeres vacunadas tendrán una reducción de las alteraciones citológicas menores, como ASC-US y L-SIL, reduciéndose así las consultas de colposcopia. Más a largo plazo se observará una reducción de la prevalencia de HSIL y de cáncer de cérvix.

La reducción de la prevalencia de las anomalías escamosas condicionará en la citología una pérdida del valor predictivo positivo (VPP). Se estima que el actual VPP de la citología es del 50-70% pasará a ser del 10-20% en el caso de que la mayoría de mujeres cribadas estén vacunadas (99). El test VPH, los test de genotipado o los nuevos marcadores moleculares ofrecerán mejor capacidad para seguir a las mujeres vacunadas, y la citología quedará como test de selección para los casos VPH positivos.

4. TRATAMIENTO DE LA NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL

Existen diversos tipos de tratamiento, los cuales se dividen en:

- **Destructivos**: producen una destrucción física de la lesión y, por tanto, no obtienen tejido para estudio histológico. Son la termocoagulación, Elelectrocoagulación, Criocoagulación y Vaporización con láser de CO2.
- **Escisionales**: extirpan la lesión, por ello puede realizarse el estudio histológico, que permitirá descartar la presencia microinvasión o invasión, que está presente en un 6-12% y un 2% respectivamente (101). Son la conización y la histerectomía.

4.1. CONIZACIÓN

La técnica consiste en la exéresis de toda la zona de transformación, incluyendo la lesión. La conización con asa diatérmica se considera un método seguro y eficaz.

La escisión con asa diatérmica fue introducida por Cartier en 1984 para la toma de biopsias con fines diagnósticos. En 1989 Prendiville (102) propuso la técnica con finalidad terapéutica al incorporar asas de mayor tamaño que permiten la exéresis de toda la zona de transformación. En Europa la técnica se conoce como LLETZ (Large Loop Excision of the Transformation Zone), en Estados Unidos se emplean las siglas LEEP (Loop Electrical Excision Procedure).

Un estudio reciente estudio realizado por **Urdaneta-Machado y colaboradores** (103), compara la efectividad de la conización en lesiones cervicales intraepiteliales de alto grado mediante electroescisión quirúrgica con Asa de Trucone y con asa diatérmica. Concluyen que ambas asas fueron efectivas, aunque se encontraron diferencias significativas a favor del asa de Trucone, en cuanto a menor tiempo quirúrgico, menor compromiso de los bordes y menor frecuencia de recidivas.

4.2.SEGUIMIENTO POSTRATAMIENTO DE LA NEOPLASIA INTRAEPITELIAL

Aunque los porcentajes de éxito de los tratamientos actuales son superiores al 95%, el seguimiento postratamiento es necesario. Las mujeres tratadas por una CIN presentan un riesgo de desarrollar un cáncer invasor 5 veces mayor que el de la población general, y éste puede aparecer en un periodo de 10 a 20 años después del tratamiento (104) (105).

El riesgo de recurrencia es aproximadamente un 15% (5-25%), la mayoría de las recurrencias se dan en los dos primeros años, aunque el riesgo está incrementado en las dos siguientes décadas (106) (107) (108)

La enfermedad **residual** es aquella lesión que se pone de manifiesto en cualquiera de los controles realizados en el curso de los 12 primeros meses después de tratamiento. La enfermedad **recurrente** es la que se presenta después del primer año de seguimiento, durante el cual tanto la citología como la colposcopia han sido negativas.

Se han propuesto diferentes protocolos de seguimiento postratamiento (109), (110). Se recomienda citología y colposcopia cada 6 meses y determinación del test de VPH a los 6-12 meses. Si dos citologías consecutivas son negativas o el test viral es negativo la paciente puede volver al cribado normal durante un mínimo de 20 años (111).

La sensibilidad del test de VPH para detectar lesión persistente o recurrente alcanza el 90% a los 6 meses del tratamiento y se mantiene así hasta los 24 meses (112).

Los factores que se han asociado a un mayor riesgo de persistencia o recurrencia son:

- Tamaño lesional.
- Estado inmunológico
- Edad de la paciente (50años)
- Persistencia de infección del VPH postratamiento (especialmente el VPH 16): las pacientes con persistencia del VPH después de la conización tienen un riesgo del 40% de CIN 2+ en los dos años siguientes (113)
- Afectación de los márgenes quirúrgicos.

La afectación de los márgenes no es sinónimo de enfermedad residual, la mayoría de las pacientes con márgenes positivos no presentan fallos del tratamiento y los márgenes libres de enfermedad no garantiza el éxito del tratamiento. Los márgenes afectos pueden ser consecuencia de la respuesta inflamatoria de la herida o por el efecto termal del LLETZ (114). La conducta ante márgenes afectos es el seguimiento con controles citológicos, colposcópicos y test de VPH. En caso de persistencia o de recidiva está indicada una segunda conización. En mujeres mayores de 50 años con afectación del margen endocervical, se acepta un tratamiento inmediato, la re-conización o la histerectomía, ya que son un grupo de alto riesgo de recurrencia (114).

OBJETIVOS

II. OBJETIVOS

1. OBJETIVO FUNDAMENTAL

Este trabajo se planteó con la intención de dar respuesta a los siguientes objetivos primarios:

- Determinar si existe relación entre los distintos genotipos de VPH-AR y el grado de lesión histológica en cada una de las pacientes sometidas a conización cervical incluidas en la muestra.

- Estudiar los genotipos de VPH-AR más prevalentes en nuestro medio (que no es otro que el área de influencia del H. Carlos Haya de Málaga), así como establecer las posibles diferencias o similitudes con otras series publicadas relativas a la frecuencia de los distintos genotipos de VPHs-AR.

2. OBJETIVOS SECUNDARIOS

- Analizar la influencia de los factores de riesgo (cofactores) en las lesiones cervicales intraepiteliales de alto grado y carcinoma de cuello de útero.

- Determinar las características epidemiológicas de las pacientes portadoras de una infección VPH-AR con Lesión Intraepitelial de Alto Grado que fueron tratadas mediante conización cervical en el Hospital Materno Infantil Carlos Haya de Málaga durante los 12 meses que van desde el 01.05.2007 y el 31.04.2008.

MATERIAL Y MÉTODO

III. MATERIAL Y MÉTODO

1. PLANTEAMIENTO METODOLÓGICO

Se ha realizado un estudio observacional, descriptivo y retrospectivo.

2. POBLACIÓN DE ESTUDIO

Nuestro estudio abarcó la población femenina de Málaga, que según el Servicio Andaluz de Salud corresponde al Hospital Universitario Carlos Haya y su Centro de Especialidades C.A.R.E. y más concretamente los distritos sanitarios de Málaga centro, área metropolitana de Málaga, Málaga este y Rincón de la Victoria. Nos propusimos extraer del total de citologías ginecológicas informadas, durante intervalo de tiempo comprendido entre 1 Mayo del 2007 y 31 de Abril del 2008, los casos diagnosticados de Lesiones Intraepiteliales Escamosas de Alto Grado (H-SIL) que corresponden con las lesiones histológicas de CIN 2+, carcinoma “in situ” y de carcinoma invasor, y que fueron sometidas a una conización cervical en el mismo Servicio hospitalario y que representaron en total 111 casos clínicos.

A todas las pacientes incluidas en nuestro estudio se les aplicó el cribado del cáncer de cérvix mediante citología convencional y se confirmó el diagnóstico mediante estudio histológico. El estudio molecular de las muestras se realizó por el personal del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Carlos Haya. El tratamiento y seguimiento de la evolución fue realizado por el personal facultativo de la Unidad de Oncología Ginecológica del Hospital Materno-Infantil del mismo Centro Hospitalario.

2.1. Criterios de inclusión

Se incluyeron en el estudio las pacientes diagnosticadas con citología anormal, compatible con H-SIL o cáncer de cuello uterino, con estudio molecular de VPH y sometidas a conización cervical. El estudio de campo se realizó entre el 1 mayo del 2007 y 31 abril del 2008, en total 1 año (12 meses consecutivos).

2.2. Criterios de exclusión

Todos las mujeres que aunque fueron diagnosticadas de lesión intraepitelial no se les practicó una conización cervical o no constaba en la historia clínica un test de estudio molecular del ADN viral o su genotipado.

Todas estas pacientes fueron cribadas (diagnosticadas) por el mismo personal del servicio de Anatomía Patológica del Hospital universitario Carlos Haya, tratadas y seguidas en su evolución por la Unidad de Oncología Ginecológica del Hospital Materno-Infantil del mismo Centro Hospitalario.

3. PROTOCOLO DE ESTUDIO

El método empleado para el diagnóstico de sospecha de este grupo de pacientes fue el cribado de cáncer de cérvix mediante citología convencional (triple toma de Wied), siguiendo la clasificación de Bethesda modificada¹.

Todos los resultados informados como H-SIL o carcinoma de cérvix por el Servicio hospitalario de Anatomía Patológica del mismo hospital, fueron remitidos para estudio a la consulta de Patología Cervical del Servicio de Obstetricia y Ginecología del Hospital Materno Infantil. En dicha unidad se realizó un estudio molecular de VPH, se practicó una colposcopia ampliada con ácido Acético al 5%.

A los casos cuyo informe histológico fue CIN 2+, carcinoma “in situ” o cáncer invasor de cuello uterino, se les realizó una conización cervical en el mismo hospital, dentro del programa de Hospital de día (cirugía mayor ambulatoria), mediante asa diatérmica bajo anestesia loco-regional seguida de un legrado endocervical.

Las muestras histológicas obtenidas se manejaron de forma convencional, fijadas en formol al 4 %. Las piezas, marcadas previamente con hilo de sutura a las 12 h., se remitieron al servicio de Anatomía Patológica del mismo Hospital, donde se realizaron cortes seriados, en sentido horario, divididos en cuadrantes. Se obtuvieron 3-4 cortes por cuadrantes de unos 3-4mm, por tanto, en total se analizaron entre 12 a 16

cortes de cada cono cervical. Dichas preparaciones fueron sometidas a tinción convencional con Hematoxilina-Eosina (H.E.) y por último estudiadas por el patólogo para obtener un diagnóstico histológico definitivo.

La detección del ADN viral, se realizó en todos y cada uno de los casos mediante la técnica de *Reacción en Cadena de la Polimerasa* (P.C.R.) con una toma con torunda seca aplicada a la U.E.C. del cérvix. La extracción del DNA se realiza de forma automática y se utiliza como molde para la detección de ADN de VPH mediante amplificación del genoma. Dicho resultado se verifica mediante electroforesis en gel de agarosa y tinción con bromuro de etidio, en un transiluminador de luz ultravioleta. Se consideró test positivo cuando aparecía una banda de 150pb.

Posteriormente, en el Servicio hospitalario de Anatomía Patológica se procedía a la identificación del genoma mediante un kit comercializado (Kit VVPH - Geno Array) específico para diagnóstico de 17 VPH-AR : 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59 , 66, 68, 73 y 82 y de 16 VPH -BR: 6, 11, 40, 61, 42, 43, 44, 54, 55, 70, 57, 71, 72, 81, 84, 26.

4. VARIABLES DEL ESTUDIO

Las variables analizadas han recogidas de las historias clínicas de las pacientes depositadas en el Servicio de Documentación Clínica del Hospital Carlos Haya.

Atendiendo a la naturaleza de la variable, así como su posible relación con nuestra variable principal (lesión histológica), éstas pueden clasificarse en los siguientes grupos:

- **Variables demográficas:** edad, etnia.
- **Variables relacionadas con los cofactores del cáncer de cuello uterino:** hábito tabáquico, estado inmunitario, edad de la primera relación sexual, número de parejas sexuales, número de embarazos, uso de anticoncepción hormonal, genotipo de VPH.
- **Variables diagnósticas:** resultados colposcópicas, histológicos, estudio molecular del VPH.

- EDAD: expresada en años; en el momento del diagnóstico de la lesión cervical, y que aparecía en la historia clínica de la paciente.
- LUGAR DE PROCEDENCIA: haciendo distinción entre pacientes españolas y europeas, de las del resto de continentes.
- HÁBITO TABÁQUICO: según estuviese recogido en la historia clínica de la sección de oncología ginecológica. No fue posible determinar el número medio de cigarrillos día.
- EDAD DE LA PRIMERA RELACIÓN SEXUAL: expresada en años. En la expresión de los resultados se agrupó: ≤ 15 años, 16 - 20 años, 21-29 años y ≥ 30 años.
- NÚMERO DE PAREJAS SEXUALES: hasta el diagnóstico de la lesión intraepitelial y según confesaba la paciente en el momento de la realización de la anamnesis de la historia clínica.
- GRAVIDEZ- PARIDAD: número de gestaciones, partos a término y abortos que constaban en la historia obstétrica en ese momento.
- ANTICONCEPCIÓN HORMONAL: se han incluido anticonceptivos orales, el parche y el anillo vaginal. No se especificó el tiempo de utilización de los mismos en la historia clínica.
- ESTADO INMUNOLÓGICO: Se han incluido los procesos o enfermedades intercurrentes que más menoscaban las defensas inmunológicas, como infección por VIH, paciente trasplantada en tratamiento con ciclosporina, enfermedades autoinmunes en tratamiento corticoideo, etc.
- DIAGNÓSTICO MOLECULAR DEL VPH: en la base de datos se incluyeron los genotipos obtenidos para cada caso positivo. Los resultados los clasificamos en:
 - VPH: positivo o negativo.
 - Genotipo VPH-AR.

- Patrón de infección VPH:
 - Infección simple, cuando la muestra mostró infección por un único genotipo de alto riesgo.
 - Infección múltiple, en los casos en los que se observó más de un genotipo de alto riesgo.
- RESULTADOS COLPOSCÓPICO: se evaluó, en primer lugar, si la zona de transformación de la UEC era visible o no, en cuyo caso se consideró colposcopia “insatisfactoria“. En los casos en los que la colposcopia fue satisfactoria se estudió si la zona de transformación (ZT), siguiendo la Clasificación de Barcelona del 2002 (33), se catalogaron los cambios acontecidos como cambios menores o mayores. No constando en dicha historia clínica las imágenes patológicas concretas halladas en cada caso aislado.
- CONCORDANCIA HISTOLÓGICA ENTRE LA BIOPSIA CERVICAL Y LA CONIZACIÓN: Analizando el grado de correlación entre el diagnóstico definitivo de la pieza quirúrgica y el diagnóstico histológico previo a la intervención quirúrgica.
- DIAGNÓSTICO ANATOMO-PATOLÓGICO DEFINITIVO: de las lesiones intraepiteliales cervicales y del cáncer invasor de cérvix, siguiendo la Clasificación de Richart del 2007 la cual hace constar que la neoplasia cervical intraepitelial tiene tres grados, según sea la afectación del espesor del epitelio escamoso(figura) :
 - **CIN 1 (Grado 1)**: la lesión se limita al tercio basal del epitelio.
 - **CIN 2 (Grado 2)**: la lesión se limita a los 2/3 del grosor del epitelio, antes se denominaba displasia moderada.
 - **CIN 3 (Grado 3)**: lesión escamosa de alto grado o displasia severa y ocupa el 100 % del espesor del epitelio. Dicha lesión se considera como un carcinoma “*in situ*”.

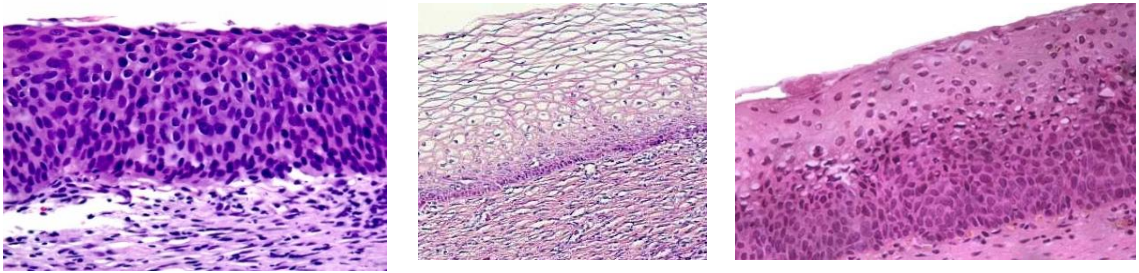


Figura 17. Neoplasia Intraepitelial Cervical.

- ESTUDIO DE LOS MÁRGENES EXOCERVICALES DE LA PIEZA: según estuvieran o no afectados y su relación con otros parámetros clínicos.
- ESTUDIO DE LOS MÁRGENES ENDOCERVICALES DEL CONO.
- ANÁLISIS DE LOS TRATAMIENTOS QUIRÚRGICOS COMPLEMENTARIOS: si la paciente los recibió o no, en función del diagnóstico histológico definitivo del cono y de otros parámetros clínicos o los cofactores.
- INFECCIÓN PERSISTENTE VPH-AR EN CONTROL POSTOPERATORIO: Se estableció dicho control de DNA-VPH a los 6 meses de la intervención quirúrgica, mediante la técnica de PCR.

5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS

La valoración estadística de los resultados se ha realizado mediante pruebas estadísticas descriptivas y analíticas o inferenciales.

Para el análisis de datos se ha empleado el programa estadístico SPSS, edición 17.0 para Windows (“Statistical Package for the Social Sciencies”).

5.1. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA

Se ha realizado, en primer lugar y con intención de obtener una valoración global de nuestra serie, un análisis descriptivo del total de variables, en el que se ha procedido de la siguiente manera:

- **Variables cualitativas:** para este conjunto de parámetros se han calculado las tablas de frecuencia con las respectivas frecuencias absolutas y porcentajes.
- **Variables cuantitativas:** para el conjunto de naturaleza numérica se han determinado los estadísticos de tendencia central y dispersión usuales (media, desviación típica, etc.)

5.2. ESTADÍSTICA ANALÍTICA O INFERENCIAL

Para contrastar las posibles asociaciones entre dos o más variables y la intensidad de esa asociación se ha utilizado el siguiente criterio:

- Para el análisis comparativo de una variable numérica entre dos grupos independientes que siguen una distribución normal, se ha utilizado el test t-Student. En todos los casos se ha contemplado la homocedasticidad (igualdad de varianzas). En situación de no cumplirse la normalidad, se ha llevado a cabo el contraste de hipótesis mediante el test no paramétrico de Mann-Whitney.
- Cuando hemos tratado de comparar más de dos grupos de una variable cuantitativa, el análisis se ha realizado utilizando el Análisis de la Varianza (ANOVA), en los casos en que la variable ha seguido una distribución normal. En las situaciones en las que las condiciones de normalidad y/u homocedasticidad (igualdad de la varianza) hayan sido violadas, se ha utilizado el test no paramétrico Kruskal-Wallis.
- Para el estudio de las relaciones entre variables cualitativas, se ha utilizado las tablas de contingencia para su descripción, y el test Chi-cuadrado como test de independencia/homogeneidad.

En todos los casos se ha considerado que existía diferencia significativa cuando el nivel de significación obtenido ha sido inferior al 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

IV. RESULTADOS

1. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS EPIDEMIOLÓGICOS:

1.1. Edad

Análisis descriptivo de la edad

La edad media de las pacientes de nuestra muestra fue 37,69 años, con un rango entre 23 y 67 años (tabla 1).

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
Edad	111	23	67	37,69	8,64

Tabla 4. Descriptores de la edad

Hemos agrupado las pacientes de nuestro estudio en grupos de edad de la siguiente manera:

- De 20 a 30 años.
- De 31 a 40 años.
- De 41 a 50 años.
- ≥ 50 años.

Obteniendo los siguientes resultados:

Edad (años)	N	Porcentaje	Porcentaje acumulado
20-30	25	22,5	22,5
31-40	46	41,4	64,0
41-50	33	29,7	93,7
≥ 50	7	6,3	100,0
Total	111	100,0	

Tabla 5. Grupos de edad (Frecuencia absoluta y relativa).

Analizando la edad de las pacientes de nuestra muestra destaca el aumento de la frecuencia a partir de los 30 años. El 70% de las mujeres pertenecen al grupo de edad que comprende desde los 30 a los 50 años de edad. Así se aprecia una disminución acusada de la misma a partir de los 50 años de edad.

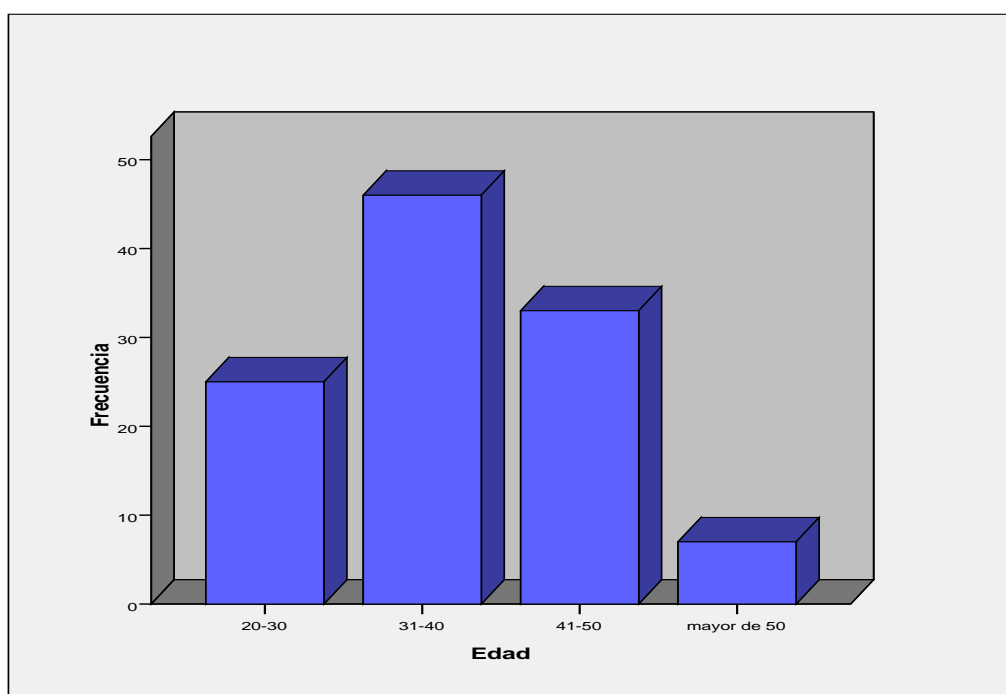


Figura 18. Distribución por edad.

Lesión histológica y edad

En la siguiente tabla se expresan los valores medios de edad de las pacientes de nuestro estudio para cada una de las lesiones.

LESIÓN	N	Mínimo	Máximo	Media(años)	Desviación típica
CIN 1	3	28	43	34,67	7,64
CIN 2-3	96	23	67	36,97	8,61
Carcinoma	10	35	60	43,60	6,93

Tabla 6. Descriptores de edad por tipo de lesión cervical (p=0,57)

Se observa una tendencia, no significativa estadísticamente, de aumento de la edad media de la paciente a medida que aumenta la gravedad de la lesión. El diferencial de edad es más acusado entre los casos de CIN 2-3 y los de carcinoma que es 6,6 años. El diferencial de edad obtenido entre los casos CIN 1 y los carcinomas es 8,9 años.

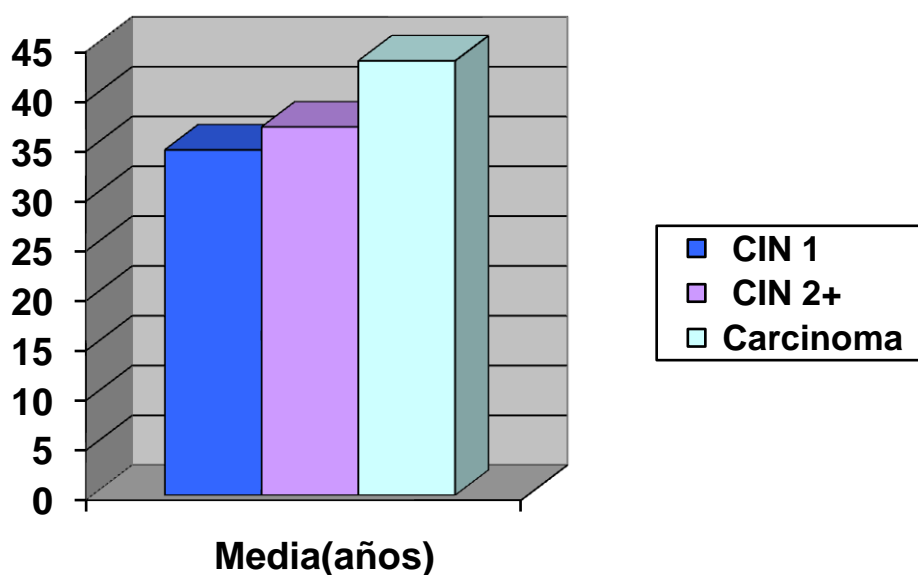


Figura 19. Distribución de la edad media de las pacientes en función de la lesión histológica.

1.2. Procedencia de las pacientes

Analizando la procedencia de las pacientes de nuestra muestra, obtenemos que la mayoría, concretamente el 85,6% (n: 95) son de nacionalidad española. El segundo grupo más mayoritario son las pacientes que proceden de Magreb (5,4%).

Procedencia	Nº casos	%
Española	95	85,6
Magrebí	6	5,4
Norteamericana	1	0,9
Sudamericana	4	3,6
Europea	3	2,7
Subsahariana	2	1,8
Total	111	100

Tabla 7. Procedencia de las pacientes

En el siguiente gráfico se puede observar la distribución de las pacientes en función de su procedencia:

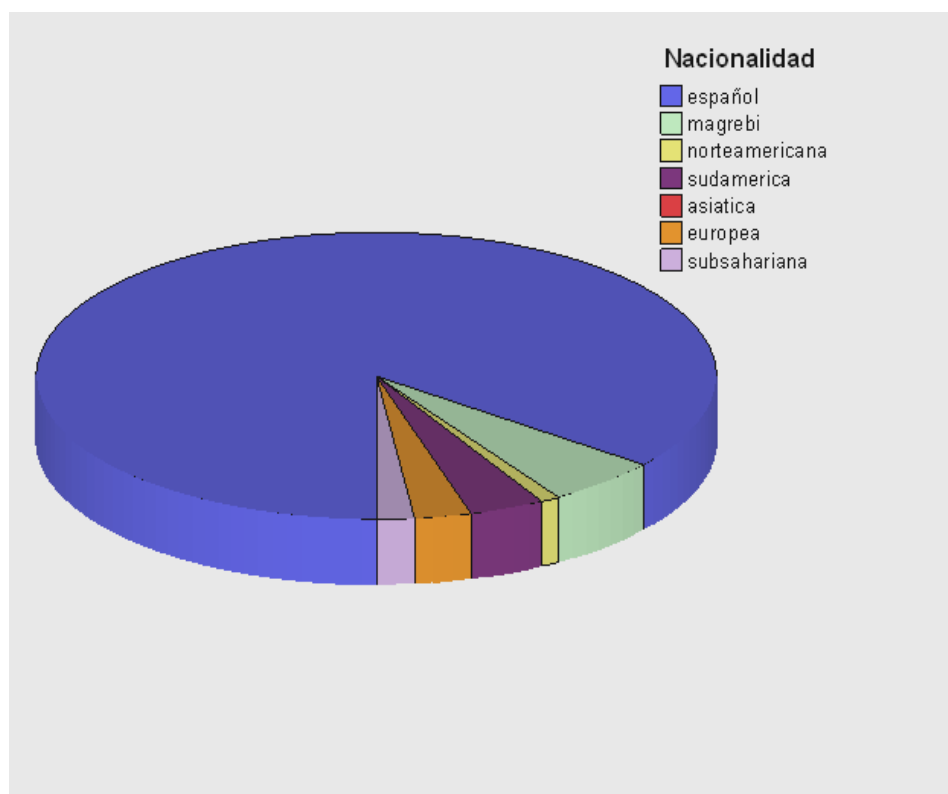


Figura 20. Distribución de la procedencia de las pacientes

Si agrupamos la procedencia de las pacientes por continentes, obtenemos los siguientes valores:

Procedencia	Nº casos	%
Europea	98	88,3
Africana	8	7,2
Americana	5	4,5
Total	111	100

Tabla 8. Procedencia de las pacientes agrupadas por continentes.

2. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS COFACTORES

A continuación presentamos el análisis de cada una de las variables consideradas como posibles factores de riesgo o relacionadas con el grado de lesión histológica de la paciente.

Para su desarrollo y, para una mejor comprensión global de los resultados, hemos utilizado, para cada variable de interés, la siguiente estrategia:

- **Factores cualitativos:** tabla de contingencia y test chi cuadrado.
- **Factores cuantitativos:**
 - Análisis descriptivo de la variable independiente (factor).
 - Gráfica sobre su distribución de frecuencia.
 - Análisis bivalente inferencial que establezca su posible relación con el grado histológico.

2.1. COFACTORES DE ADQUISIÓN DE LA INFECCIÓN POR VPH

Edad de la primera relación sexual:

Análisis descriptivo de la edad de la primera relación sexual

Analizando la edad media de edad del primer coito de nuestra población estudiada encontramos que la edad media fue a los 17,48 años, con un rango de 12 a 29 años:

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
Edad	111	12	29	17,48	2,39

Tabla 9. Parámetros descriptivos de la edad del primer coito.

En la siguiente figura se muestra la distribución de la edad del inicio de las relaciones sexuales en nuestra muestra:

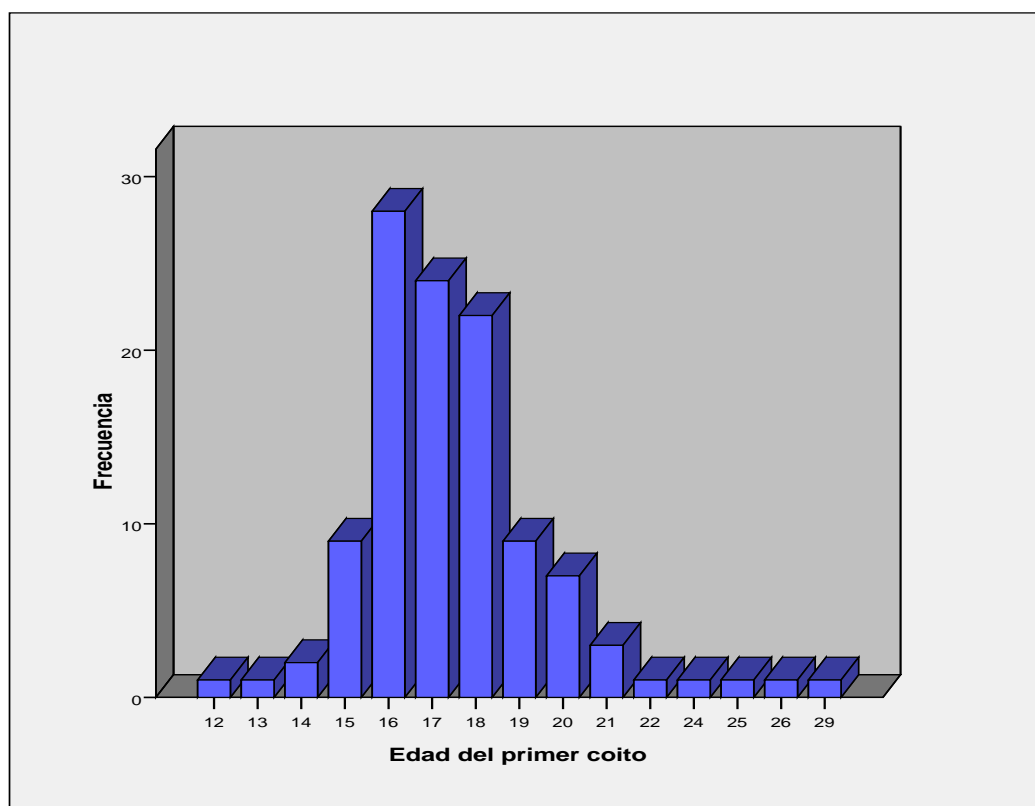


Figura 21. Histograma de la edad de inicio de las relaciones sexuales.

El rango de los 16 a los 18 años de edad de inicio de las relaciones sexuales engloba a los dos tercios del total de casos estudiados, siendo la edad más frecuente a los 16 años.

Lesión histológica y edad de inicio de las relaciones sexuales

Se ha realizado una tabla de contingencia con la edad de la primera relación sexual (en intervalos) y la lesión histológica, para ello hemos subdividido a las pacientes en varios grupos, según la edad de inicio de las relaciones sexuales:

- De 12 a 15 años.
- De 16 a 20 años.
- De 21 a 29 años.

Lesión		Edad de la 1ª relación sexual			Total
		12-15	16-20	21-29	
CIN 1	Nª de casos	0	3	0	3
	%	0%	100%	0%	100%
CIN 2-3	Nª de casos	11	77	8	96
	%	11,5%	80,2%	8,3%	100%
Carcinoma	Nª de casos	2	8	0	10
	%	20,0%	80,0%	0%	100 %
Total	Nª de casos	13	88	8	109
	%	11,9%	80,7%	7,3%	100%

Tabla 10. Distribución conjunta de edad de la primera relación sexual y lesión cervical (p= 0,709).

No hemos encontrado relación estadísticamente significativa entre la edad de la primera relación sexual y el grado de lesión histológica cervical (p= 0,709). Puede observarse una tendencia, al observar que el grupo de mujeres que iniciaron las relaciones sexuales entre los 12 y los 15 años de edad cobra mayor peso relativo a medida que aumenta el grado de lesión histológica. En el total de casos de CIN 1 este grupo representa un 0%, en los casos de CIN 2-3 un 11,5% y en los de carcinoma un 20%.

Observamos que, a medida que aumenta el grado de lesión, encontramos mujeres que comenzaron las relaciones más jóvenes. En el 80 % de los casos de CIN 2-3 y

carcinoma de cérvix la edad de inicio de las relaciones sexuales se encontraba entre los 16 y los 20 años.

Número de parejas sexuales

Análisis descriptivo del número de parejas sexuales

Hemos recogido el número de parejas sexuales que constaba en la historia clínica de las pacientes, en la siguiente tabla se muestran los resultados:

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
Nº parejas sexuales	111	1	20	3,89	2,791

Tabla 11. Parámetros descriptivos del nº de parejas sexuales

En nuestro estudio la media de parejas sexuales es 3,89, con un rango de 1 a 20 parejas.

En la siguiente figura se muestra el número de parejas sexuales de nuestra muestra:

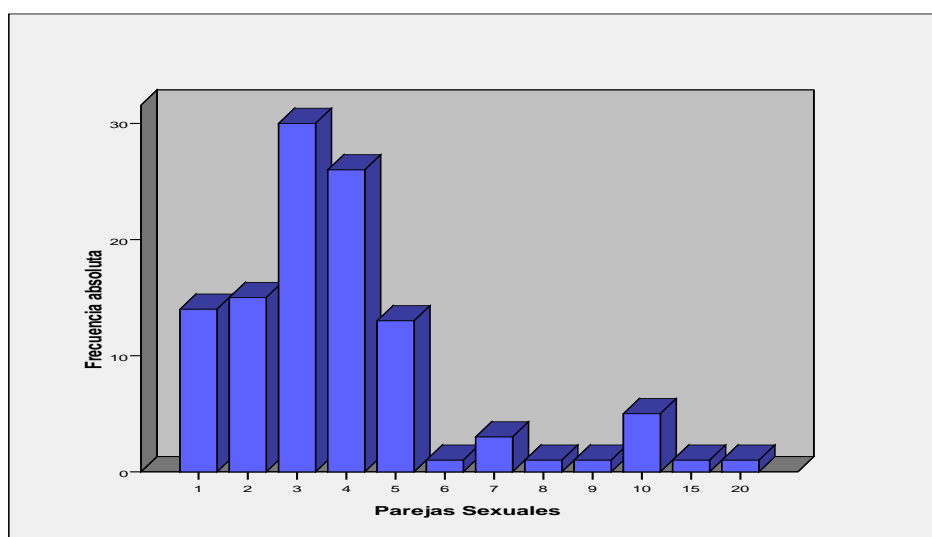


Figura 22. Histograma del número de parejas sexuales

Encontramos que más del 50% de las mujeres han tenido tres o cuatro parejas sexuales.

2.2. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS COFACTORES IMPLICADOS EN LA CARCINOGENESIS CERVICAL

Tabaco

Análisis descriptivo del consumo de tabaco

En el momento del diagnóstico el 53% de las pacientes de la muestra eran fumadoras:

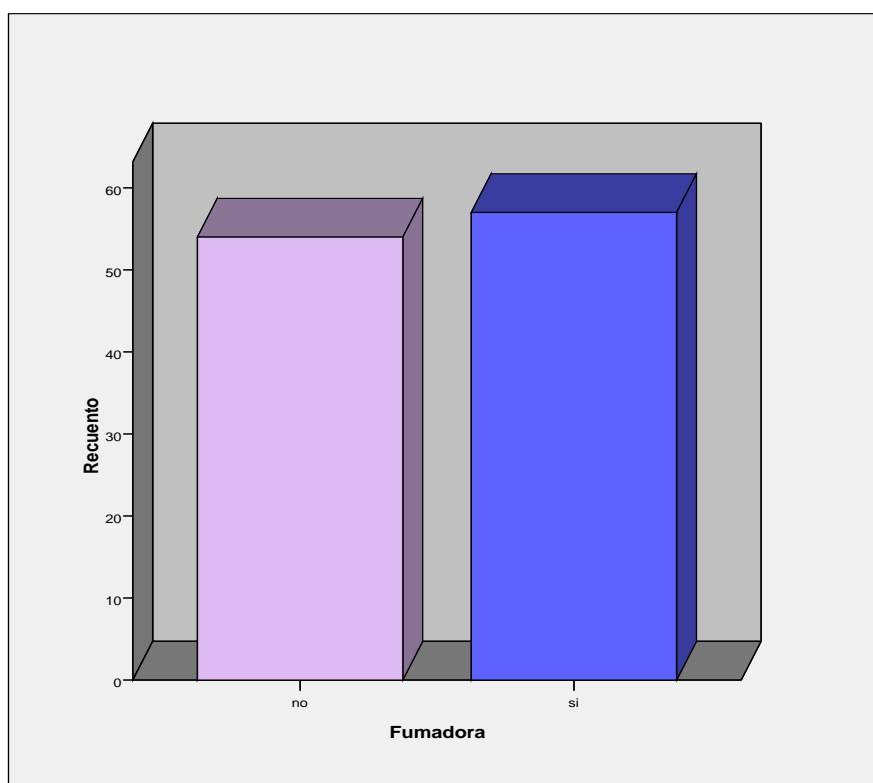


Figura 23. Consumo de tabaco

Lesión histológica de cuello uterino y consumo de tabaco

Hemos estudiado la relación entre las variables lesión histológica cervical y consumo de tabaco:

Lesión		Fumadora		Total
		No	Si	
CIN 1	Nº de casos	2	1	3
	%	66,7%	33,3%	100%
CIN 2-3	Nº de casos	46	50	96
	%	47,9%	52,1%	100%
Carcinoma	Nº de casos	5	5	10
	%	50,0%	50,0%	100 %
Total	Nº de casos	53	56	109
	%	48,6%	51,4%	100%

Tabla 12. Tabla de contingencia entre el grado de lesión y el consumo de tabaco (p= 0,811).

No hemos encontrado una relación significativa entre el hábito tabáquico y el grado de lesión histológica ($p = 0,811$). Sin embargo puede observarse que en los casos con diagnóstico histológico de CIN 2-3 y carcinoma de cérvix el porcentaje de mujeres fumadoras se incrementa aproximadamente en un 20 % con respecto a los casos con diagnóstico de CIN 1. En estos últimos casos puede apreciarse que el porcentaje de mujeres no fumadoras representa el doble del de las fumadoras.

Gravidez

Análisis descriptivo de los antecedentes obstétricos

Con respecto al número de gestaciones encontramos un total de 155 en nuestra muestra, con un número medio de gestaciones por paciente de 1,4. El rango abarca de 0 a 4 gestaciones.

Recogemos un total de partos de 117. El número medio de partos es 1,1 por paciente.

En cuanto al número de abortos, se han dado un total de 32. En relación al total de la muestra obtenemos una media de 0,3 por paciente.

	Número	Frecuencia	Porcentaje
Gestaciones	0	29	26,1
	1	32	28,8
	2	36	32,4
	3	11	9,9
	4	3	2,7
	Total	111	100,0

Tabla 13. Distribución de frecuencias del número de gestaciones.

Lesión histológica del cuello uterino y número de gestaciones

En la siguiente tabla analizamos la relación entre la lesión histológica del cuello uterino y el número medio de gestaciones:

LESIÓN	Nº medio de embarazos	Desviación típica	Minimo	Máximo	Total
CIN 1	0,67	0,58	0	3	3
CIN 2-3	1,20	1,01	1	5	96
Carcinoma	2,10	0,74	2	4	10

Tabla 14. . Lesión histológica y gravidez (p= 0,015)

Como podemos observar el número medio de gestaciones aumenta a medida que lo hace el grado de lesión histológica del cuello uterino (p=0,015).

Al estudiar la relación entre el número medio de partos y la lesión cervical, obtenemos los siguientes resultados:

LESIÓN	Nº medio de partos	Desviación típica	Minimo	Máximo	Total
CIN 1	0,67	0,58	0	1	3
CIN 2-3	0,97	0,83	0	3	96
Carcinoma	2,00	0,82	1	3	10

Tabla 15. Lesión histológica y número de partos (p =0,001)

RESULTADOS

Con relación estadísticamente significativa ($p=0,001$), se observa que en los casos de carcinoma de cuello uterino el número de partos es más del doble que en los casos CIN 2-3.

No encontramos diferencias significativas en cuanto al número medio de abortos ($p=0,499$):

LESIÓN	Nº medio de abortos	Desviación típica	Mínimo	Máximo	Total
CIN 1	0,00	0,00	0	0	3
CIN 2-3	0,23	0,47	0	2	96
Carcinoma	0,10	0,32	1	1	10

Tabla 16. Lesión histológica y número de partos ($p=0,499$)

En el siguiente gráfico podemos ver el número medio de gestaciones, partos y abortos en cada tipo de lesión:

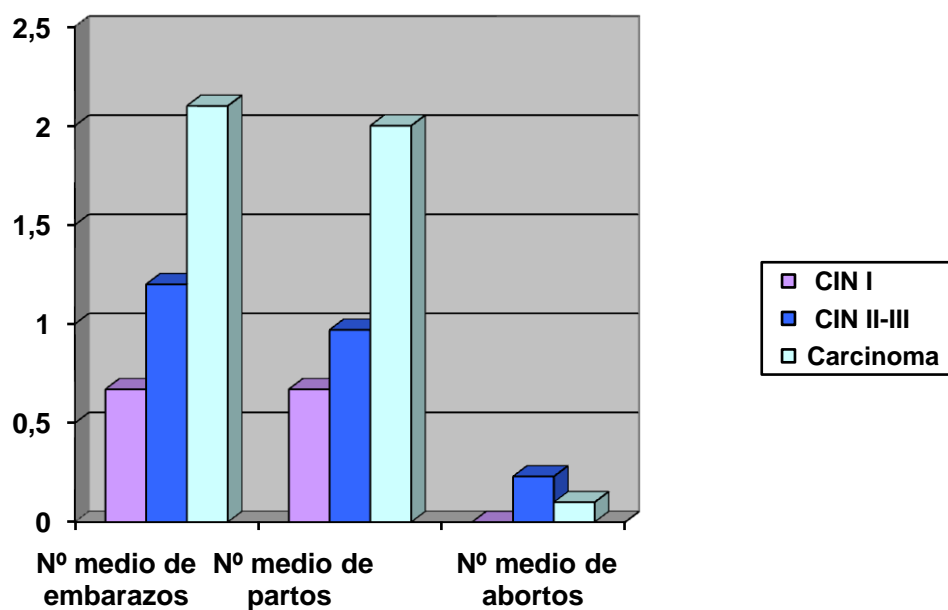


Figura 24. Número medio de embarazos, partos y abortos y grado de lesión

Anticonceptivos hormonales

Análisis descriptivo del uso de anticonceptivos hormonales.

En nuestra muestra el 34,2% de las mujeres utilizaban anticoncepción hormonal, frente al 65,8% que no los usaban:

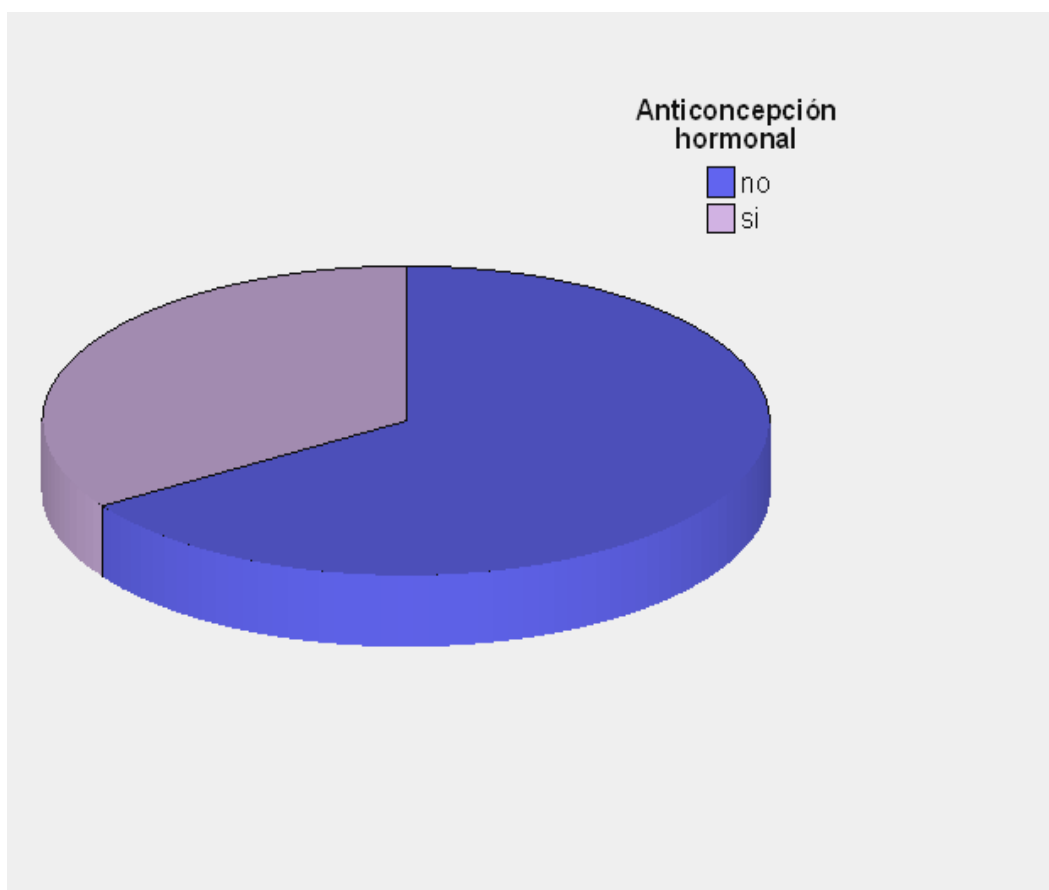


Figura 25. Utilización de anticoncepción hormonal.

Lesión cervical y anticoncepción hormonal

Hemos estudiado la relación entre las variables lesión cervical y uso de anticonceptivos hormonales, obteniendo los siguientes resultados:

Lesión		ACO		Total
		No	Si	
CIN 1	Nª de casos	2	1	3
	%	66,7%	33,3%	100%
CIN 2-3	Nª de casos	60	36	96
	%	62,5%	37,5%	100%
Carcinoma	Nª de casos	9	1	10
	%	90,0%	10,0%	100 %
Total	Nª de casos	71	38	109
	%	65,13%	34,86%	100%

Tabla 17. Tabla de contingencia entre el grado de lesión y el uso de anticonceptivos hormonales ($p = 0,236$)

No hemos encontrado relación estadísticamente significativa entre ambas variables ($p = 0,236$).

Estado inmunológico

Análisis descriptivo del estado inmunológico

En cuanto al estado inmunológico, el 3,6% de las pacientes presentaban un estado de inmunodepresión, frente al 96,4% del resto de pacientes de la muestra.

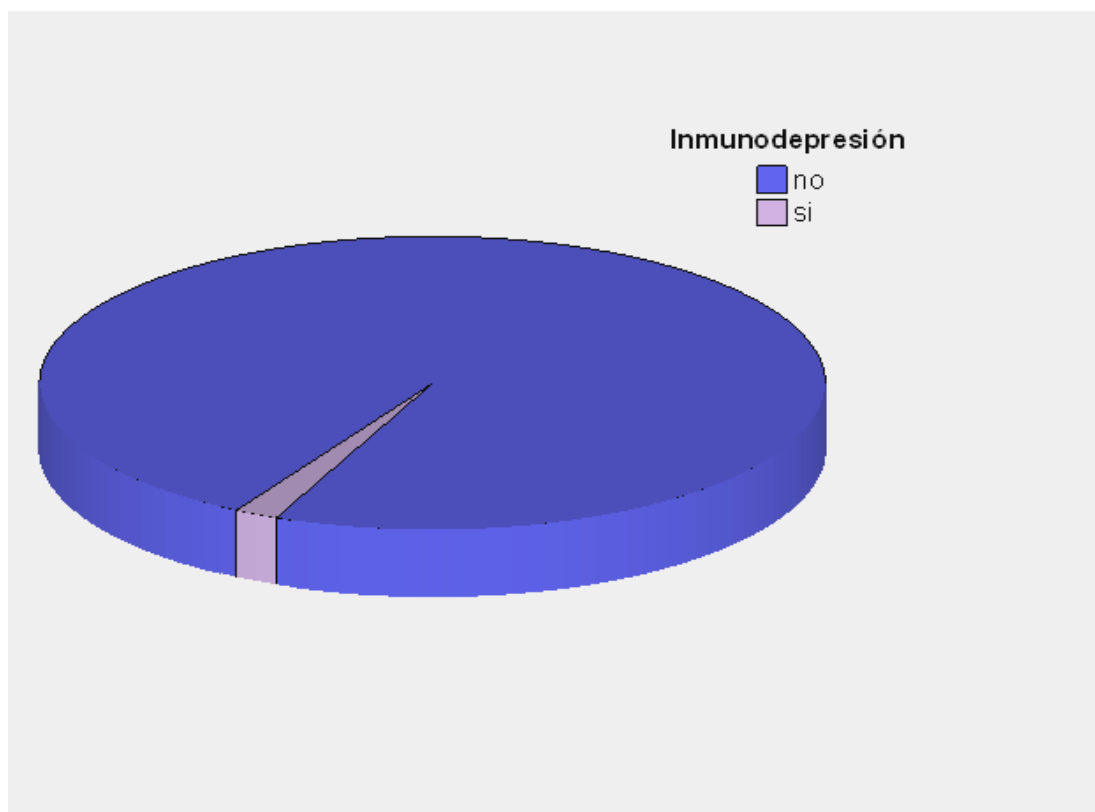


Figura 26. Estado de inmunodepresión

Lesión histológica cervical y estado inmunológico

Al estudiar la relación entre las variables grado de lesión histológica y estado inmunológico, obtenemos los siguientes resultados:

Lesión		Inmunodepresión		Total
		No	Si	
CIN 1	Nº de casos	3	0	3
	%	100%	0%	100%
CIN 2+	Nº de casos	95	1	96
	%	99%	1%	100%
Carcinoma	Nº de casos	9	1	10
	%	90,0%	10,0%	100 %
Total	Nº de casos	107	2	109
	%	98,2%	1,8%	100%

Tabla 18. Tabla de contingencia entre la lesión histológica y estado inmunológico (p=0,129)

Analizando los datos obtenidos, aunque no existe una relación estadísticamente significativa ($p=0,129$), podemos observar una tendencia, ya que el porcentaje de pacientes con inmunodepresión aumenta a medida que lo hace el grado de lesión histológica cervical.

2.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS DIAGNÓSTICOS

Infección por VPH

Análisis descriptivo de la infección por VPH

Según se desprende de nuestros resultados, en el 96,4 % de los casos el test de ADN-VPH resultó positivo, en el 3,6 % restante de los casos fue negativo.

Test ADN-VPH	N	Porcentaje	Porcentaje acumulado
Negativo	4	3,6	3,6
Positivo	107	96,4	100,0
Total	111	100,0	100,0

Tabla 19. Descriptores de infección por VPH

Con respecto al tipo de infección, en el 63,1% de los casos se detecta infección monogenómica por VPH-AR, y en el 35.1% restante se identifica infección por varios VPHs-AR.

Infección VPH	N	Porcentaje	Porcentaje acumulado
Monogenómica	70	63,1	64,2
Multigenómica	39	35,1	100,0
Total	109	98,2	100,0

Tabla 20. Descriptores tipo de infección VPH.

Lesión histológica y test ADN-VPH

Hemos estudiado la relación entre ambas variables, obteniendo los siguientes resultados:

Lesión		Test ADN-VPH		Total
		Negativo	Positivo	
CIN 1	N ^a de casos	1	2	3
	%	33,3%	66,7%	100%
CIN 2-3	N ^a de casos	3	93	96
	%	3,1%	96,9%	100%
Carcinoma	N ^a de casos	0	10	10
	%	0%	100%	100 %
Total	N ^a de casos	4	105	109
	%	3,6%	96,4%	100%

Tabla 21. Tabla de contingencia entre el grado de lesión y resultado del test ADN-VPH (p=0,0001)

Con significación estadística (p=0,0001), podemos observar que a medida que aumenta el grado de lesión histológica, aumenta el número de casos positivos del test de ADN-VPH.

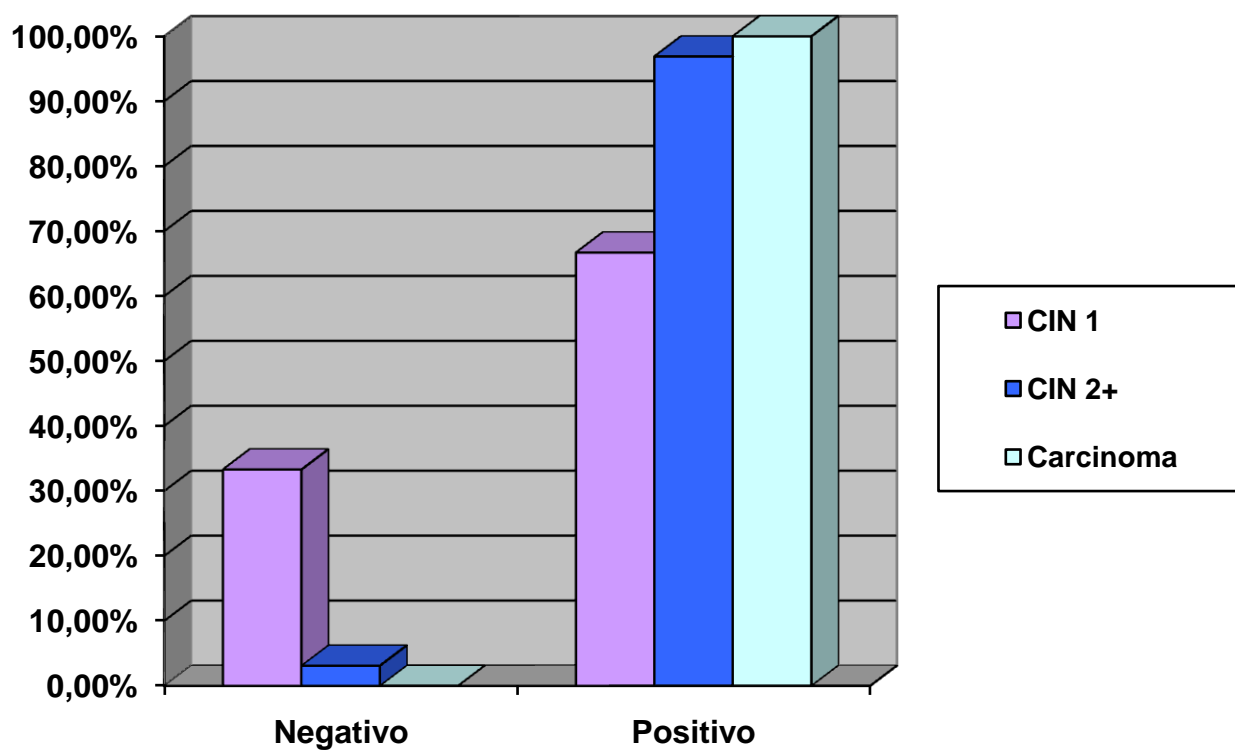


Figura 27. Grado de lesión y test ADN-VPH

Genotipo VPH

Análisis descriptivo de los genotipos del VPH

En la siguiente tabla hemos recogido los genotipos de VPH hallados en las pacientes de nuestra muestra:

VPH	Frecuencia	Porcentaje
Negativo	4	3,6
16	57	51,4
18	4	3,6
31	2	1,8
45	5	4,5
33	6	5,4
56	2	1,8
16 y 18	6	5,4
16 y otros VPH-AR	18	16,2
16 ,18 y otros VPH-AR	2	1,8
varios VPH-AR	5	4,5
Total	111	100

Tabla 22. Genotipos VPH (frecuencia absoluta y relativa)

El VPH hallado con más frecuencia es el **VPH 16**, que está presente en un 51,4% de forma aislada. En un 5,4% de los casos coexistía infección por VPH 16 y 18. En el 16,2% de los casos se trataba de una infección producida por el VPH 16 y otros VPH-AR. El 1,8% de los casos se identificó multiinfección por el VPH 16,18 y otros VPH-AR.

En el 3,6% de los casos se detectó infección por el **VPH 18**.

El **VPH 33** estaba presente en el 5,4% de los casos.

El **VPH 45** se identificó en un 4,5% de los casos.

El **VPH 31** se halló en el 1,8% de los casos.

El **VPH 56** en el 1,8% de los casos.

En la siguiente figura se representan los genotipos hallados en nuestra muestra:

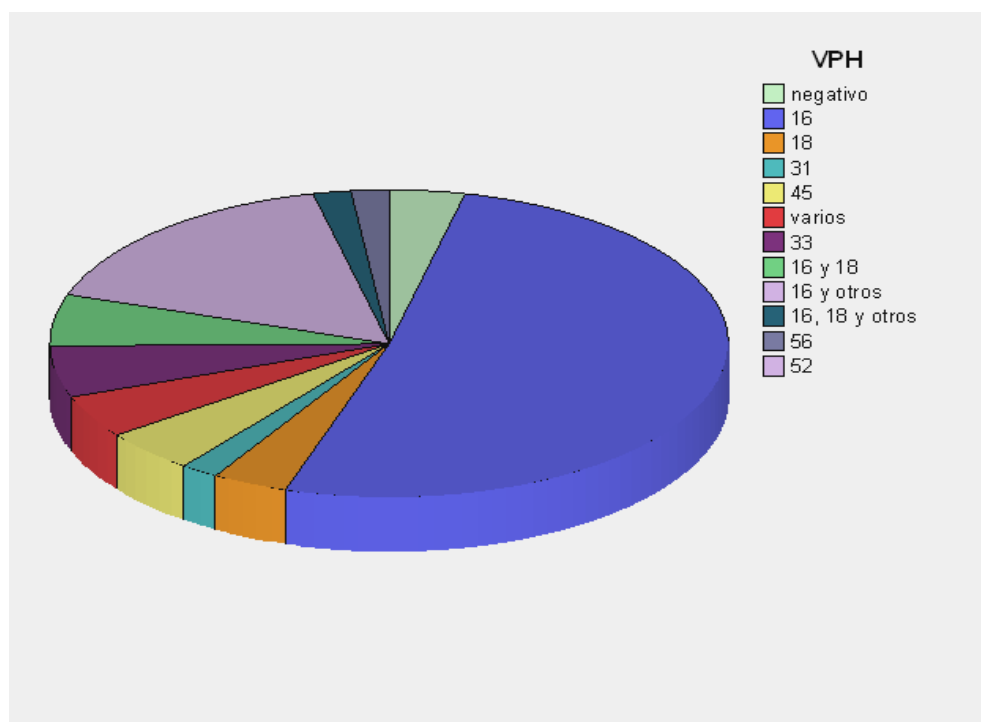


Figura 28. Genotipos VPH

Grado de lesión y genotipo VPH

Hemos analizado el grado de lesión y el genotipo VPH obteniendo los siguientes resultados:

VPH		CIN I	CIN 2-3	Carcinoma	Total
Negativo	Nº de casos	1	3	0	4
	%	33,3%	3,1%	0,0%	3,7%
16	Nº de casos	2	49	5	56
	%	66,7%	51,0%	50,0%	51,4%
18	Nº de casos	0	4	0	4
	%	0,0%	4,2%	0,0%	3,7%
31	Nº de casos	0	2	0	2
	%	0,0%	2,1%	0,0%	1,8%
45	Nº de casos	0	4	0	4
	%	0,0%	4,2%	0,0%	3,7%
33	Nº de casos	0	6	0	6
	%	0,0%	6,3%	0,0%	5,5%
56	Nº de casos	0	2	0	2
	%	0,0%	2,1%	0,0%	1,8%
16 y 18	Nº de casos	0	4	2	6
	%	0,0%	4,2%	20,0%	5,5%
16 y otros	Nº de casos	0	16	2	18

	%	0,0%	16,7%	20,0%	16,5%
16,18 y otros	N ^a de casos	0	1	1	2
	%	0,0%	1,0%	10,0%	1,8%
varios VPH-AR	N ^a de casos	0	5	0	5
	%	0,0%	5,2%	0,0%	4,6%
Total	N ^a de casos	3	96	10	109
	%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Tabla 23. Tabla de contingencia grado de lesión histológica y genotipo

- Analizando desde un punto de vista exclusivamente descriptivo, se puede deducir, de los datos expuestos que en el 100% de los **carcinomas** de cérvix de la muestra existe infección por el VPH 16, como infección aislada en el 50% de los casos, asociado al VPH 18 en el 20% de los casos, en el 20% de los casos a otros VPH-AR y en el 10% restante coexiste la infección del VPH 16, VPH 18 y otros VPH-AR.

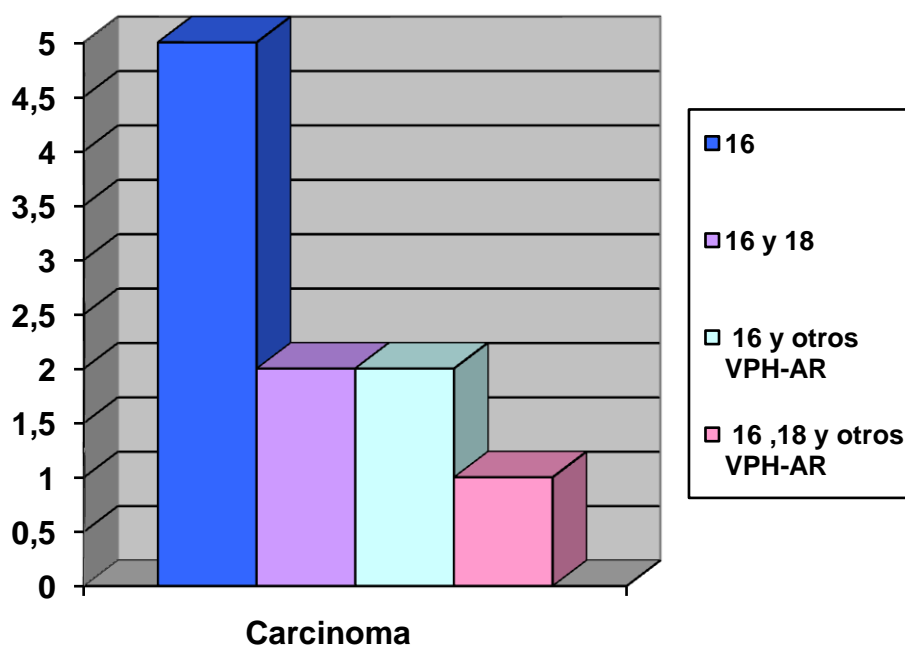


Figura 29. Frecuencia de los genotipos VPH en los casos de carcinoma de cérvix.

- En los casos **CIN 2-3** el VPH 16 está presente en el 72,91% de los casos, en el 51% de los casos de forma aislada, asociado al VPH 18 en el 4,2%, a otros VPH-AR en el 16,7% y en el 1% de los casos se detecta multi-infección por VPH 16, VPH 18 y otros VPH-AR.

En el 9,4% de los casos de CIN 2-3 se detecta infección por VPH 18, ya sea de forma aislada o asociado a otros VPH-AR.

El VPH 33 se identifica en el 6,3% de los casos, en el 4,2% se halla infección por el VPH 45 y en el 2,1% por el VPH 31.

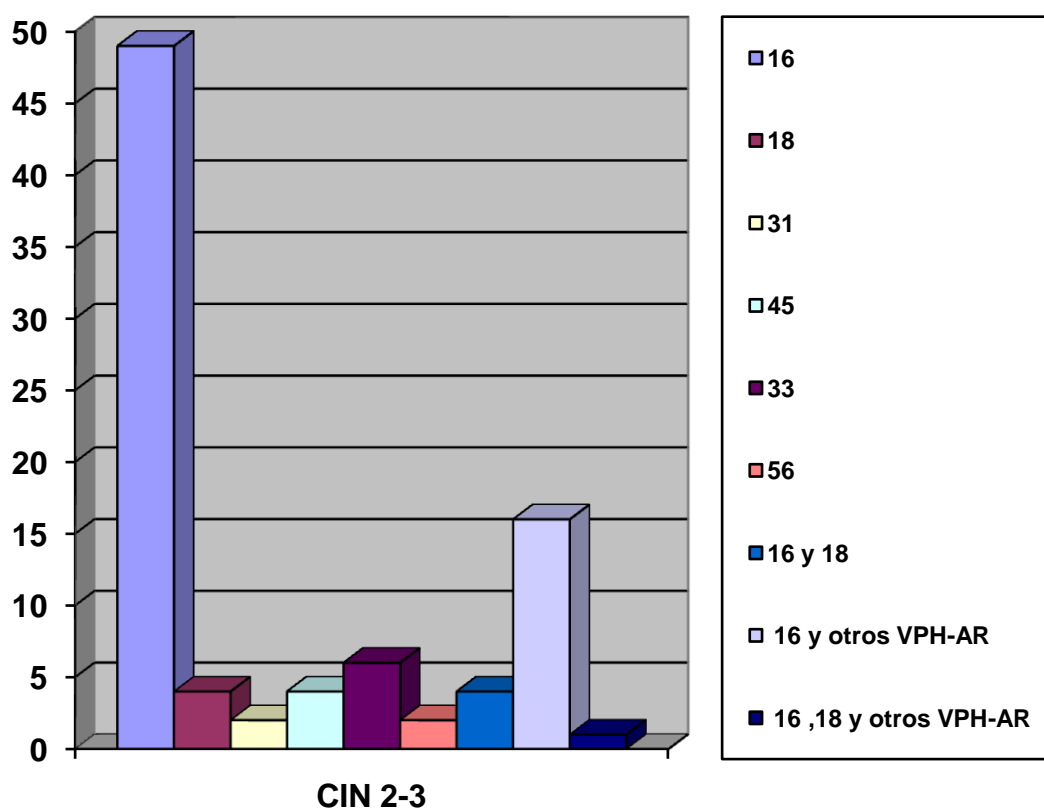


Figura 30. Frecuencia de los genotipos VPH en los casos CIN 2-3.

- En los casos **CIN 1** no existe infección por VPH en el 33,3% de los casos y en el resto de los casos se detecta infección por VPH 16.

Colposcopia

Análisis descriptivo de los resultados colposcópicos

El resultado de las colposcopias realizadas a las pacientes del estudio se muestran en la siguiente tabla:

Colposcopia	Frecuencia	Porcentaje
Normal	5	4,5
Cambios menores	18	16,2
Cambios mayores	76	68,5
Sugestiva de ca invasor	2	1,8
Insatisfactoria	10	9,0
Total	111	100,0

Tabla 24. Distribución de los resultados colposcópicos

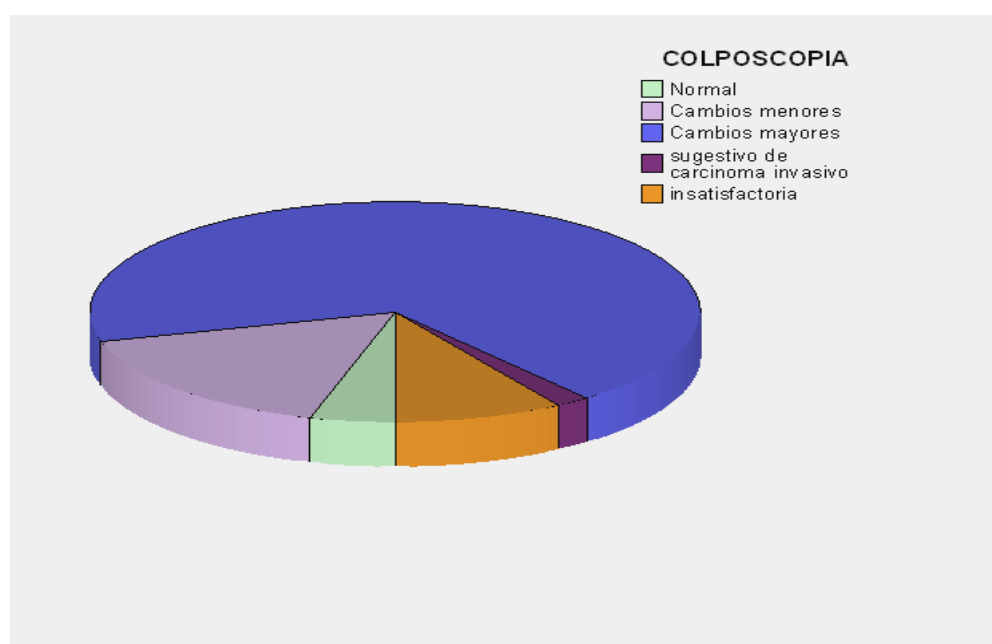


Figura 31. Resultados colposcopia

Lesión histológica y resultados colposcópicos

Hemos estudiado la relación entre ambas variables, obteniendo los siguientes resultados:

Lesión		Colposcopia					Total
		Normal	Cambios menores	Cambios mayores	Sugestivo de cáncer invasivo	Insatisfactoria	
CIN 1	N ^a de casos	2	1	0	0	0	3
	%	66,7%	33,3%	0,0%	0,0%	,0%	100,0%
CIN 2-3	N ^a de casos	2	15	71	0	8	96
	%	2,1%	15,6%	74,0%	0,0%	8,3%	100,0%
Carcinoma	N ^a de casos	0	1	6	1	2	10
	%	0%	10,0%	60,0%	10,0%	20,0%	100,0%
Total	N ^a de casos	4	17	77	1	10	109
	%	3,7%	15,6%	70,6%	0,9%	9,2%	100,0%

Tabla 25. Tabla de contingencia grado de lesión y colposcopia ($p \leq 0,0001$)

Se obtiene una relación estadísticamente significativa ($p \leq 0,0001$) en el 74% de los casos CIN 2-3 se observaron cambios mayores, así como en el 60% de los casos de carcinoma.

Biopsia cervical dirigida por colposcopia

Análisis descriptivo de los resultados de la biopsia cervical

En el 76,6% de los casos se realizó biopsia del cuello uterino, con los siguientes resultados:

- CIN 2 en el 22,5% de los casos.
- CIN 3 en el 46,8%.
- Carcinoma en el 7,2%.

Biopsia	N	Porcentaje
NO	26	23,4
CIN 2	25	22,5
CIN 3	52	46,8
Ca. invasor	8	7,2
Total	111	100,0

Tabla 26. Biopsia cervical dirigida por colposcopia

Lesión histológica y biopsia de cérvix

Si comparamos la lesión cervical con los resultados de la biopsia cervical, obtenemos los siguientes resultados:

Lesión		Biopsia			
		NO	CIN 2-3	CARCINOMA	Total
CIN 1	Nº de casos	0	3	0	3
	%	0%	100%	0%	100,0%
CIN 2-3	Nº de casos	25	69	2	96
	%	26,0%	71,9%	2,1%	100,0%
Carcinoma	Nº de casos	0	4	6	10
	%	0%	40,0%	60,0%	100,0%
Total	Nº de casos	25	76	8	109
	%	22,9%	69,8%	7,3%	100,0%

Tabla 27. Tabla de contingencia grado de lesión y biopsia cervical ($p \leq 0,0001$)

Obtenemos relación estadísticamente significativa ($p \leq 0,0001$) entre ambas variables, en el 71,9% de los casos de CIN 2-3, la biopsia dirigida por colposcopia fue informada como tal.

Resultado histológico del cono

Los resultados histológicos de las conizaciones son las siguientes:

- El 1,7% de los conos son negativos.
- El 2,8% de los casos son CIN 1.
- El 22,5% CIN 2.
- El 64% CIN 3.
- El 6,3% carcinoma microinvasor de cérvix.
- El 2,7% carcinoma infiltrante de cérvix.

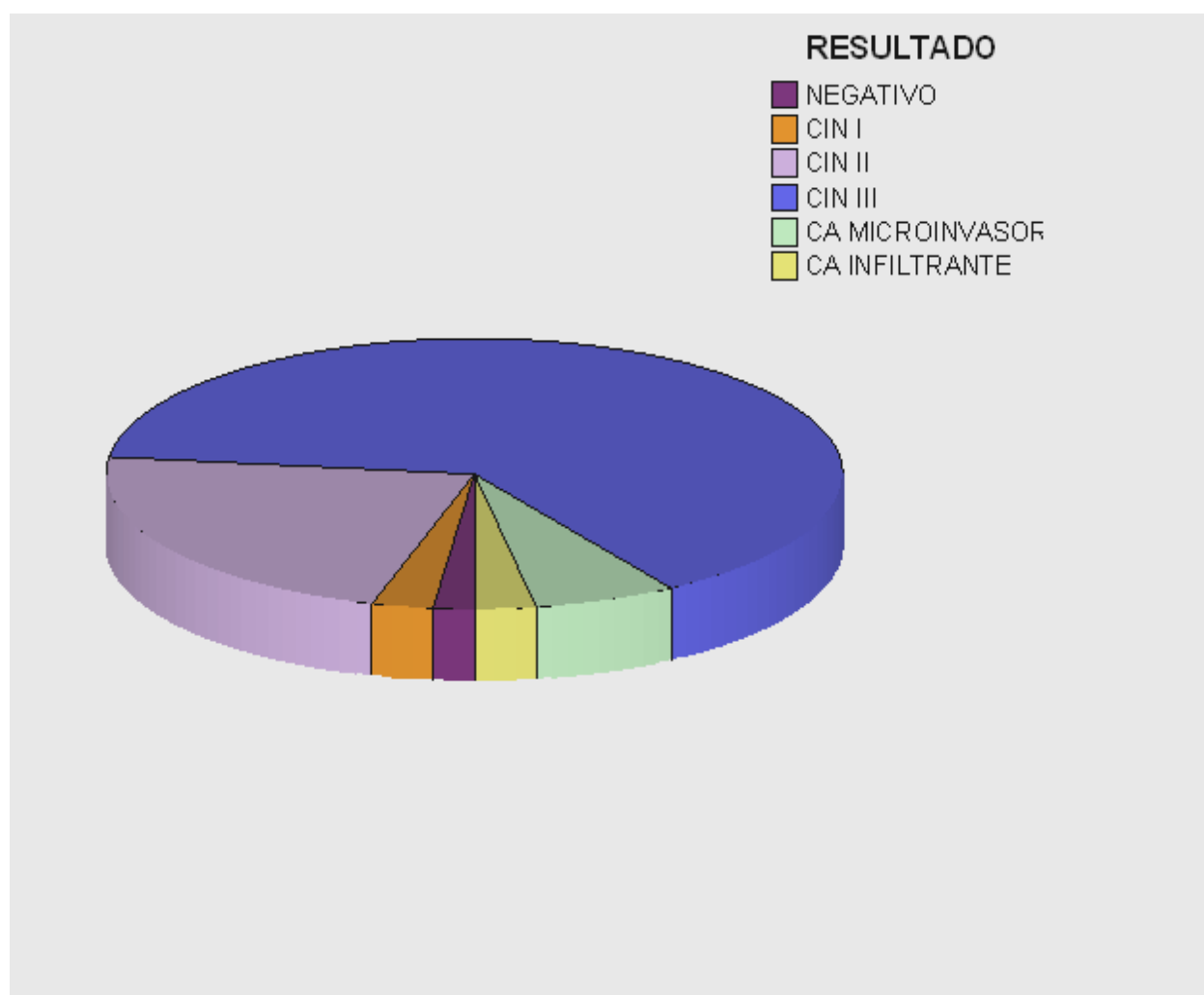


Figura 32. Grado de lesión

Estudio de los márgenes de la conización:

Análisis descriptivo:

- **Margen Exocervical**

Los resultados de la afectación de los márgenes exocervicales de las conizaciones son los siguientes:

Márgenes Exocervicales	Frecuencia	Porcentaje
No afecto	97	87,4
Afecto	14	12,6

Tabla 28. Afectación de márgenes exocervicales (frecuencia relativa y absoluta)

- **Margen Endocervical**

Con respecto a la afectación del borde endocervical, los resultados obtenidos son los siguientes:

Márgenes Endocervicales	Frecuencia	Porcentaje
No afecto	94	84,7
Afecto	17	15,3

Tabla 29. Afectación de márgenes endocervicales (frecuencia relativa y absoluta)

Lesión histológica y afectación de márgenes de la conización

Hemos relacionado el grado de lesión cervical y la afectación de los márgenes de la conización, obteniendo los siguientes resultados:

- **Márgenes exocervicales:**

LESIÓN		MARGEN EXOCERVICAL		Total
		No afecto	Afecto	
CIN I	N ^a de casos	3	0	3
	%	100,0%	0,0%	100%
CIN II-III	N ^a de casos	87	9	96
	%	90,6%	9,4%	100%
Carcinoma	N ^a de casos	5	5	10
	%	50,0%	50,0%	100 %
Total	N ^a de casos	95	14	109
	%	87,2%	12,8%	100%

Tabla 30. Tabla de contingencia lesión histológica y afectación de márgenes exocervicales (p = 0,01)

Con relación estadísticamente significativa ($p = 0,01$), encontramos que el porcentaje de bordes exocervicales afectados en las conizaciones de nuestra muestra aumenta a medida que lo hace el grado de lesión histológica cervical del cuello uterino.

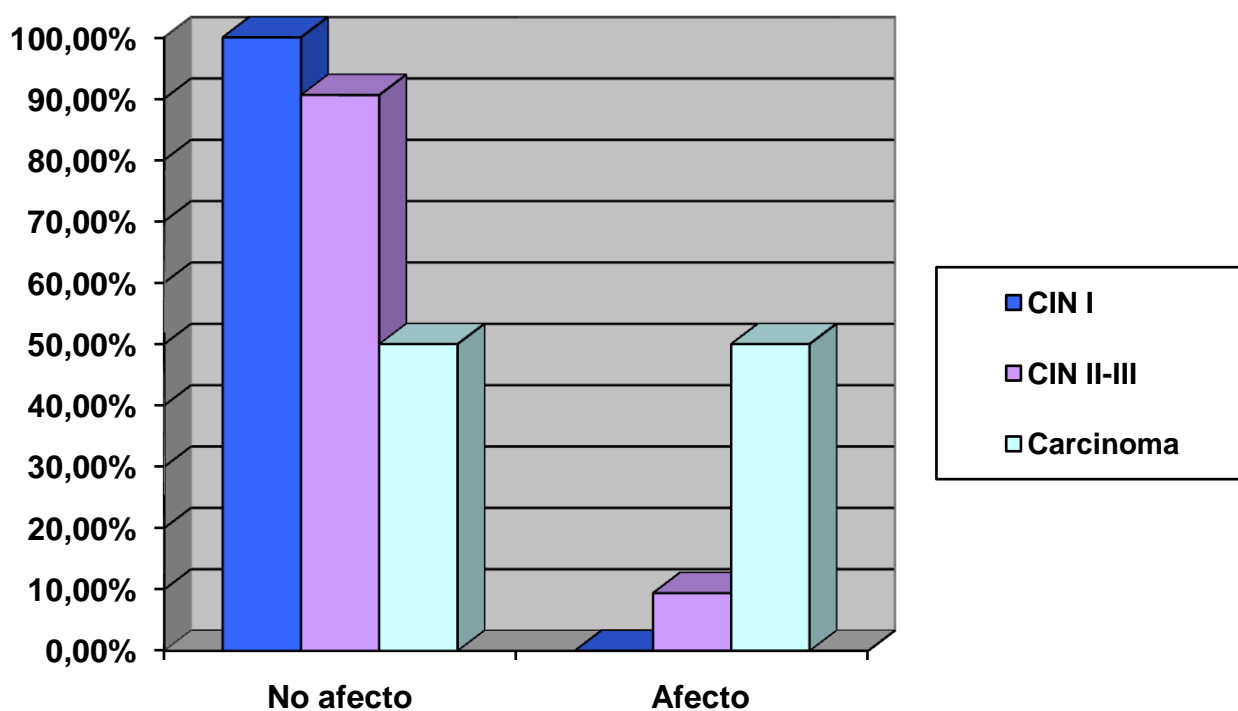


Figura 33. Lesión histológica y afectación de márgenes exocervicales

• **Márgenes endocervicales:**

LESIÓN		MARGEN ENDOCERVICAL		Total
		No afecto	Afecto	
CIN 1	Nº de casos	3	0	3
	%	100,0%	0,0%	100%
CIN 2+	Nº de casos	82	14	96
	%	85,4%	14,6%	100,0%
Carcinoma	Nº de casos	7	3	10
	%	70,0%	30,0%	100,0%
Total	Nº de casos	92	17	109
	%	84,4%	15,6%	100,0%

Tabla 31. Tabla de contingencia lesión histológica cervical y afectación de márgenes endocervicales (p=0,33)

No hemos obtenido relación estadísticamente significativa en este caso (p=0,33), pero observamos que cuanto mayor es el grado de lesión, el porcentaje de márgenes endocervicales afectados aumenta.

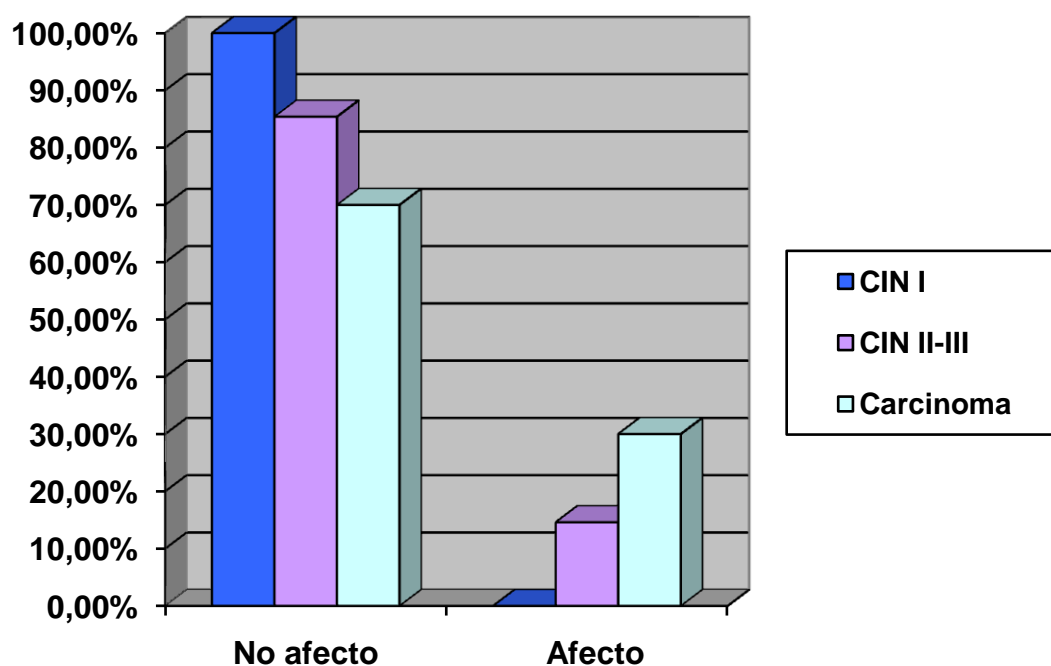


Figura 34. Grado de lesión cervical y afectación de márgenes endocervicales

Tratamiento quirúrgico complementario

Análisis descriptivo del tratamiento quirúrgico complementario

Analizando la necesidad de tratamiento quirúrgico complementario observamos que:

- En el 82,6% (n:90) de los casos no se realizó tratamiento complementario.
- En el 9,2% de los casos se realizó una reconización.
- En el 5,5% (n=6) se realizó una histerectomía total.
- En 3 casos (2,8 %) se practicó una histerectomía Wertheim Meigs.

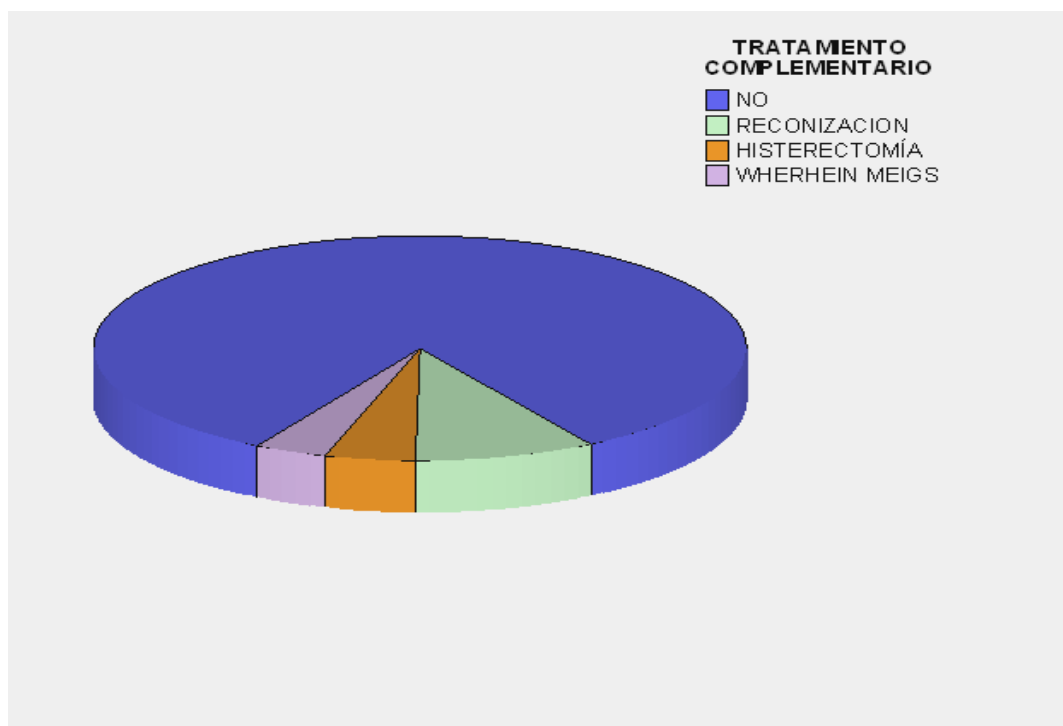


Figura 35. Tratamiento quirúrgico complementario

Lesión histológica y tratamiento quirúrgico complementario

En los casos de CIN 1 no fue necesario realizar tratamiento quirúrgico complementario.

En los casos CIN 2-3, en el 88,6% de ellos no se realizó tratamiento quirúrgico complementario, en el 10,4% se realizó una segunda conización y en el 1% una histerectomía simple.

En los casos con diagnóstico de carcinoma de cuello uterino en el 20% de los casos (n=2) se realizó una histerectomía simple. En el 80% de los casos de carcinoma de cérvix (n=8) se practicó una histerectomia radical modificada.

Lesión		Tratamiento complementario				Total
		NO	Reconización	Histerectomía simple	Histerectomía radical modificada	
CIN 1	N ^a de casos	3	0	0	0	3
	%	100,0%	,0%	,0%	,0%	100,0%
CIN 2-3	N ^a de casos	85	10	1	0	96
	%	88,6%	10,4%	1,0%	0%	100,0%
Carcinoma	N ^a de casos	0	0	2	8	10
	%	,0%	,0%	20,0%	80,0%	100,0%
Total	N ^a de casos	88	10	3	8	109
	%	80,7%	9,2%	2,8%	7,3%	100,0%

Tabla 32. Tabla de contingencia grado de lesión histológica y tratamiento complementario (p = 0,0001)

Persistencia de la infección por VPH-AR post-tratamiento

Análisis descriptivo

A los 6 meses del tratamiento quirúrgico, se le realizó el test de ADN-VPH mediante la técnica de PCR, obteniendo los siguientes resultados:

Revisión	N	Porcentaje
NO	30	27,0%
VPH negativo	61	55,0%
VPH 16	13	11,7%
VPH 31	1	0,9%
VPH 53	2	1,8%
VPH 16 y 18	1	0,9%
VPH 33	2	1,8%
VPH 68	1	0,9%
Total	111	100,0%

Tabla 33. Persistencia VPH post-tratamiento

En el 73% de los casos se realizó el test de ADN-VPH, de los cuales resultaron negativos el 55%. En los casos en los que se demostró persistencia del VPH el más frecuente fue el VPH 16, que se identificó en el 11,7% de los casos.

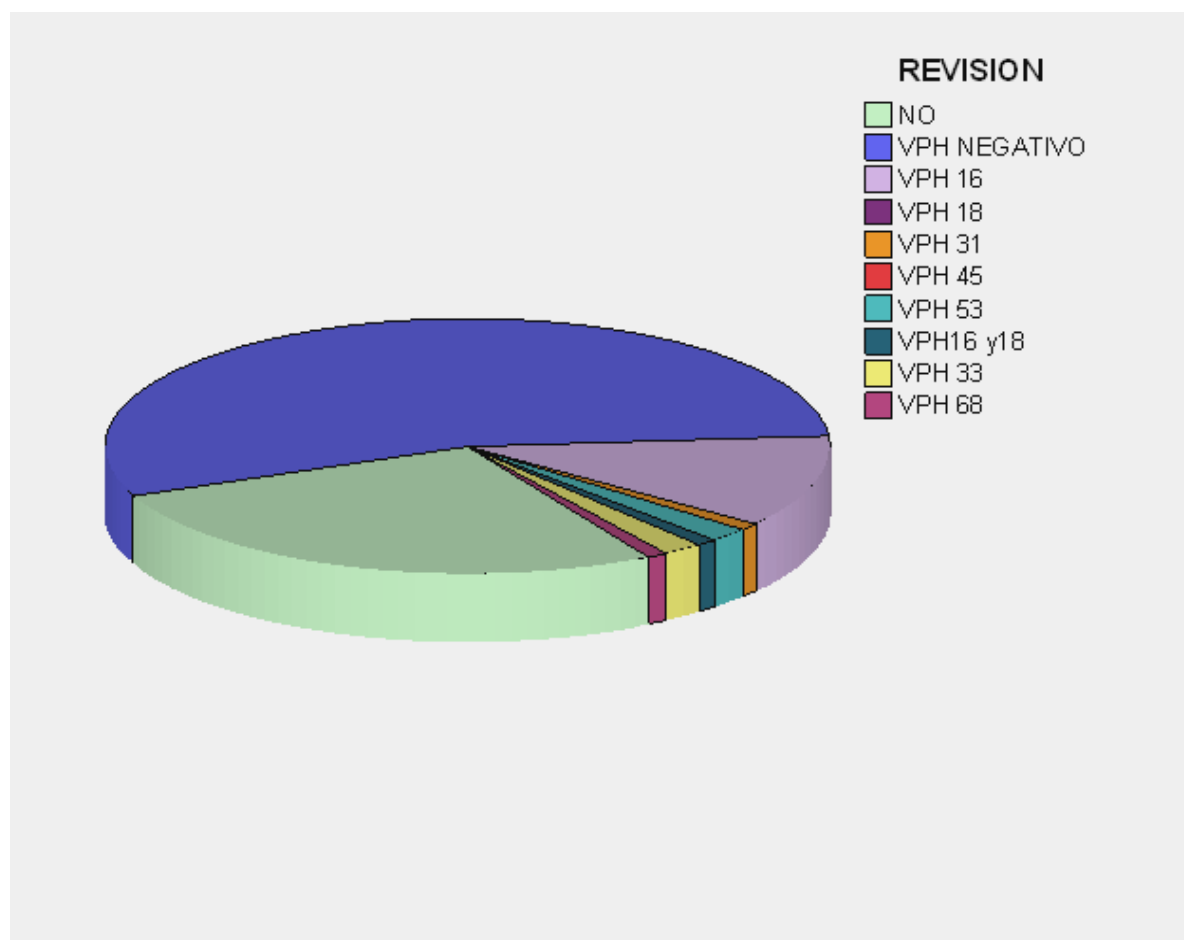


Figura 36. Persistencia VPH post-tratamiento

Lesión histológica y persistencia VPH-AR post-tratamiento

Hemos estudiado la relación entre la lesión cervical y la persistencia del VPH-AR tras la realización del tratamiento:

Lesión		Revisión								Total
		NO	VP negativo	VP 16	VP 31	VP 53	VP 16,18	VP 33	VP 68	
CIN 1	Nº de casos	0	2	1	0	0	0	0	0	3
	%	,0%	66,7%	33,3%	,0%	,0%	,0%	,0%	,0%	100,0%
CIN 2-3	Nº de casos	28	49	12	1	2	1	2	1	96
	%	29,2%	51,0%	12,5%	1,0%	2,1%	1,0%	2,1%	1,0%	100,0%
Carcinoma	Nº de casos	1	9	0	0	0	0	0	0	10
	%	10,0%	90,0%	,0%	,0%	,0%	,0%	,0%	,0%	100,0%
Total	Nº de casos	29	60	13	1	2	1	2	1	109
	%	26,6%	55,0%	11,9%	,9%	1,8%	,9%	1,8%	,9%	100,0%

Tabla 34. Tabla de contingencia grado de lesión histológica y persistencia del VPH post-tratamiento (p= 0,891)

- En los casos **CIN 1** el VPH se negativizó en el 66,7% de las pacientes.
- En el 51% de los casos de **CIN 2-3** el test viral fue negativo. En el 17.9% de los casos restantes se evidenció persistencia viral, fundamentalmente del VPH 16 (12,5%).
- En los casos de **carcinoma de cérvix** el test de ADN-VPH fue negativo en el 90% de las pacientes tras el tratamiento quirúrgico, en el 10% restante no se realizó.

DISCUSIÓN

V. DISCUSIÓN

Los estudios epidemiológicos han buscado diversas explicaciones que han ayudado a comprender el desarrollo del cáncer de cérvix.

La infección por el VPH-AR es necesaria en la patogénesis de la enfermedad. La persistencia de la infección por VPH-AR es requisito imprescindible para el desarrollo de lesiones intraepiteliales de alto grado: CIN 2-3 y cáncer de cérvix. Otros co-factores modulan el riesgo de progresión, pero no actúan independientes del VPH.

El comportamiento sexual de la mujer aumenta el riesgo de infección por el VPH (edad del primer coito, el número de parejas sexuales, relaciones sexuales con hombres que tienen o han tenido múltiples parejas sexuales). Otros factores como la alta paridad, el hábito tabáquico, las condiciones socio-económicas, la inmunosupresión y el consumo de anticonceptivos hormonales actúan como cofactores y predisponen al desarrollo del cáncer de cuello uterino (115) (116).

El comportamiento sexual de la mujer no sólo influye en el riesgo de infección por VPH, sino también de otras infecciones de transmisión sexual que actúan también como cofactores en la aparición del cáncer (43) (117). Algunos de los estudios publicados sugieren que el tabaco es uno de los cofactores ambientales más uniformemente identificados con el riesgo de padecer lesiones precancerosas y cáncer cervical (118). Determinados carcinógenos del tabaco alcanzan la mucosa cervical donde podrían actuar sinérgicamente con el VPH.

Aunque los factores socioeconómicos estudiados no han podido ser evaluados adecuadamente para establecer una relación con el cáncer de cuello de útero, el acceso limitado al screening citológico, las deficiencias nutricionales y los bajos niveles de antioxidantes pueden contribuir a incrementar el riesgo de esta neoplasia (119).

1. CONSIDERACIONES SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO

1.1. Edad

En nuestro grupo de estudio, la edad media de las pacientes sometidas a conización cervical fue 37,7 años, oscilando en un rango comprendido entre los 23 y los 67 años.

La edad media de las mujeres con CIN en los distintos estudios publicados oscila entre los 27 y 47 años (120). La edad media encontrada en los diferentes estudios publicados no difiere de la nuestra. Encontramos que el 70% de las pacientes de nuestro estudio pertenecen al grupo de edad comprendido entre los 30 y los 50 años, siendo comparable a lo publicado en la literatura. En España el cáncer de cérvix es el segundo cáncer más frecuente en mujeres de entre 15-44 años (121).

2. CONSIDERACIONES SOBRE LOS COFACTORES DE ADQUISIÓN DE LA INFECCIÓN POR VPH

2.1. Inicio de las relaciones sexuales

El riesgo de infección por el VPH es mayor en mujeres que inician tempranamente su actividad sexual.

La edad media de inicio de las relaciones sexuales en nuestro estudio fue 17.48 años, con un rango que comprende desde los 12 a los 29 años. El rango de los 16 a los 18 años de edad de inicio de las relaciones sexuales engloba a los dos tercios del total de casos estudiados, siendo la edad más frecuente a los 16 años.

El estudio AFRODITA (122) es un estudio transversal de base poblacional, diseñado para estimar el grado del uso de la citología cervical preventiva en España, así como la prevalencia de indicadores sociodemográficos, reproductivos, de conducta sexual y del conocimiento de la mujer sobre la infección por VPH, el cribado y el

cáncer de cérvix. Según los resultados del estudio AFRODITA (123) (cribado del cáncer de cuello uterino en España y factores relacionados) cerca de un tercio de las mujeres estudiadas iniciaron sus relaciones sexuales entre los 19 y los 21 años. La media de edad de la primera relación sexual es de 23,8 años en las mujeres de 56 a 70 años y de 18,2 años en las mujeres de 18 a 25 años.

Un estudio realizado por el Centro de Investigaciones Sociológicas de 2008 (124), concluye que el rango de edad de inicio de las relaciones sexuales de mayor peso porcentual engloba desde los 15 a los 24 años, siendo la edad más frecuente los 17-18 años.

Hemos analizado si el inicio precoz de las relaciones sexuales ha podido influir en el grado de lesión histológica:

- No hemos encontrado relación estadísticamente significativa entre la edad de la primera relación sexual y el grado de lesión histológica del cuello uterino.
- Sin embargo, hemos observado una tendencia, el grupo de mujeres que iniciaron las relaciones sexuales entre los 12 y los 15 años de edad cobra mayor peso relativo a medida que aumenta el grado de lesión del cuello uterino.

Khan y colaboradores (125), publican en 2002 que el riesgo de infección por el VPH aumenta cuanto menor es el tiempo transcurrido entre la menarquía y el primer coito.

Posteriormente, **Muñoz y colaboradores** (126) en una serie de 1610 mujeres, concluyen que las mujeres que inician las relaciones sexuales entre los 15 y los 19 años tienen un riesgo acumulado de ser VPH+ a los 5 años del 50%. Este riesgo va disminuyendo con la edad, para las mujeres de 30 a 44 años es del 21% y del 14% para las mujeres de 45 años o más.

2.2. Número de compañeros sexuales

La asociación entre el número de parejas sexuales y la probabilidad de detectar ADN del VPH en el tracto genital inferior es consistente (127).

En la bibliografía revisada, encontramos que el riesgo de contagio por el virus está relacionado con el número de compañeros sexuales así como las relaciones sexuales con hombres que tienen o han tenido múltiples parejas sexuales. El riesgo de infección por VPH es mayor si el tiempo transcurrido entre una pareja sexual y otra es corto (43).

Otro aspecto interesante es que en la infección por VPH, a nivel mundial, hay una marcada diferencia de género, tal como ha publicado la Dra. San José en 2007 (128), ya que afecta a un 94 % de mujeres frente a sólo un 12 % de hombres.

En nuestra serie, más del 50% de las pacientes han tenido tres o cuatro parejas sexuales. La media de parejas sexuales es 3,89, con un rango de 1 a 20 parejas.

El Estudio **AFRODITA** (123) publica que el 70,6% de las mujeres han tenido una sola pareja sexual, el 23% entre dos y cuatro y el 6,4% más de cinco.

Por tanto, según los resultados del estudio **AFRODITA**, el número de compañeros sexuales es mayor en las mujeres de nuestro estudio.

Hemos estudiado la posible influencia del número de compañeros sexuales y el grado de lesión del cuello uterino. Observamos que la media de parejas sexuales es mayor en las pacientes con CIN 2-3 y carcinoma de cérvix, que la media de parejas sexuales de las pacientes con CIN 1.

Sierra-Torres y colaboradores (129), en 2003, realizan un estudio con 142 pacientes y 158 controles para estudiar los factores de riesgo del cáncer de cérvix. Constatan que el riesgo de cáncer de cuello uterino es mayor en las mujeres con dos o más parejas sexuales y en las mujeres que inician las relaciones sexuales antes de los 18 años.

3. CONSIDERACIONES SOBRE LOS COFACTORES IMPLICADOS EN LA CARCINOGENESIS CERVICAL

3.1. Hábito tabáquico

En distintos estudios se ha relacionado la infección por VPH y el hábito tabáquico con la aparición de lesiones precursoras y cáncer en el cuello del útero.

El tabaco tiene un efecto carcinogénico directo y produce una alteración de la inmunidad local en el cuello uterino, favoreciendo la cronificación de la infección por VPH.

En nuestro estudio el 53% de las pacientes eran fumadoras en el momento del diagnóstico.

La encuesta Europea de Salud en España de 2009, publicada por el Instituto Nacional de Estadística (INE), indica que el 39.33 % de la población femenina mayor de 16 años son fumadoras.

Comparando los resultados obtenidos con los del INE, observamos que el porcentaje de mujeres fumadoras de nuestra muestra es mayor que el de la media nacional, en más de un 10%.

McIntyre-Seltman K y colaboradores (130) en el 2005, publican un estudio en el que se incluyeron 5060 mujeres con diagnóstico citológico de LSIL o ASCUS y concluyen que en estas pacientes las mujeres fumadoras con infección por VPH-AR son hasta tres veces más propensas a ser diagnosticadas de CIN 3 o carcinoma de cérvix, que las no fumadoras.

Hemos estudiado la relación entre el tabaquismo y el grado de lesión histológica cervical. No hemos encontrado una relación significativa, pero si puede observarse la siguiente tendencia:

- En los casos con diagnóstico de CIN 1 el porcentaje de mujeres no fumadoras representa el doble del de las fumadoras.
- En los casos con diagnóstico de CIN 2-3 y carcinoma de cuello uterino el porcentaje de mujeres fumadoras se incrementa aproximadamente en un 20 % con respecto a los casos con diagnóstico de CIN 1.
- En los casos con diagnóstico de carcinoma de cérvix dos de cada tres mujeres son fumadoras.

3.2.Gravidez

Las modificaciones hormonales del embarazo modulan localmente la respuesta inmune. Los cambios cervicales del parto facilitan la ectopia cervical y favorecen la infección VPH y su persistencia.

El número de gestaciones en nuestra población osciló entre 0 y 4, siendo la media de embarazos por paciente de 1,4. Respecto al número de partos recogemos una media de 1,1 partos por paciente. La media de abortos por paciente es de 0,3.

Ocho estudios casos y controles sobre el carcinoma invasivo y dos estudios sobre el carcinoma in situ del cuello uterino (131), sugieren que las mujeres con tres o cuatro embarazos tienen un riesgo de 2,6 veces superior de presentar cáncer de cuello uterino que las nulíparas y las mujeres con 7 ó más partos tienen un riesgo de 3,8 veces mayor.

Hemos estudiado la influencia de la gravidez y la paridad en el grado de lesión cervical:

- Encontramos relación estadísticamente significativa entre el número de gestaciones y el grado de lesión cervical (ANOVA: $p \leq 0,048$), de modo que a mayor número de embarazos el grado de lesión cervical es mayor.
- También hemos hallado relación estadísticamente significativa entre el número de partos y el grado de lesión cervical (ANOVA: $p \leq 0,001$), a medida que aumenta el número de partos el grado de lesión cervical es mayor, así en los

casos de carcinoma de cérvix el número medio de partos es más del doble que en los casos de CIN 2-3.

3.3. Anticonceptivos hormonales

Distintos estudios indican la relación entre el uso prolongado de anticonceptivos hormonales y el cáncer de cuello uterino. En nuestra serie el 34,2% de las pacientes utilizaban anticoncepción hormonal.

Según los resultados obtenidos en la Encuesta **DAPHNE** (132), publicada en el año 2009, nos muestra que el porcentaje de mujeres que utilizaba anticonceptivos hormonales en el año 2007 era un 20,3% , mientras que en el año 2009 era del 17,9%. Por tanto, el porcentaje de mujeres que utilizan anticonceptivos hormonales es casi un 15% mayor en nuestra muestra que en la media obtenida en dicho estudio.

Moreno y colaboradores (133) realizan un meta-análisis en el que incluyeron 10 estudios de casos y controles en pacientes con cáncer de cuello uterino (CIS y carcinoma invasivo). Concluyen que el uso a largo plazo de los anticonceptivos orales podría aumentar hasta 4 veces el riesgo de cáncer de cérvix en mujeres infectadas por el VPH. Estos resultados fueron confirmados dos años más tarde por **Smith y colaboradores** (134) en otro meta-análisis.

Posteriormente **Marks y colaboradores** (135), publican que el uso a largo plazo de anticonceptivos orales combinados se asocia a mayor riesgo de infección por VPH, independientemente de la conducta sexual de la mujer.

3.4. Inmunosupresión

Las mujeres inmunodeprimidas tienen un riesgo aumentado de cáncer genital y anal con respecto a las mujeres sanas de la misma edad (60).

En nuestra muestra el 3,6% de las pacientes presentaban un estado de inmunodepresión, bien por enfermedad VIH o transplantadas con tratamientos inmunesupresores.

Hemos estudiado la posible relación entre el estado de inmunosupresión y la lesión cervical:

- No hemos encontrado relación estadísticamente significativa entre ambas variables.
- Sin embargo, observamos que el porcentaje de pacientes inmunodeprimidas aumenta a medida que lo hace el grado de lesión del cuello uterino.

En la **serie de Ozsaran y colaboradores** (136), de 48 pacientes con transplante renal, publican que el 41,6% de estas pacientes tenían neoplasias genitales.

Un estudio realizado por **Ellrbrock y colaboradores**, en el año 2000, con 328 mujeres VIH positivas y 325 no infectadas por el VIH, concluye que el 20% de las mujeres VIH positivas frente al 5% de las mujeres no infectadas por el VIH desarrollaron una LSIL durante el periodo de seguimiento.

Coronado y colaboradores (137), publican que la inmunosupresión es el factor de riesgo predictivo más importante de recurrencia de las lesiones preneoplásicas del tracto genital inferior.

4. CONSIDERACIONES SOBRE LOS RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DIAGNÓSTICAS

4.1. Infección por VPH

El cáncer de cuello uterino es el resultado final de una infección no resuelta por el VPH (1). En el 96,4 % de los casos de nuestra serie, el test de ADN-VPH fue positivo, frente al 3,6 % que resultó negativo.

Los estudios realizados por Cuzick y colaboradores (71) y Ronco y colaboradores (72), han mostrado que la sensibilidad de los tests de ADN-VPH validados para uso en el cribado de cáncer de cérvix es del 90-95%.

Hemos estudiado la relación entre la infección por el VPH y el grado de lesión cervical, obteniendo significación estadística ($p \leq 0,0001$) entre ambas variables.

No está claro si la multiinfección por VPH interfiere en la persistencia de un tipo de VPH determinado o en su progresión. Según la Dra. Inmaculada Alonso, en la ponencia sobre “Relevancia clínica de la infección múltiple por VPH” en el Congreso de la A.E.P.C.C. celebrado en Noviembre del 2011, en el Hospital Clínico de Barcelona, la infección múltiple representa un 30% del total de las infecciones por VPH, y a nivel mundial oscila entre un 25-30%. En nuestra serie el 63,1% de los casos se detectó infección por un sólo tipo de VPH-AR, en el 35.1% restante se identificó la presencia de más de un tipo viral.

Con el objetivo de evaluar la frecuencia de la infección múltiple por VPH, **Pista y colaboradores** (138) en 2011, realizan un estudio con 1057 mujeres. Observan que en el 32% de los casos se detecta infección múltiple por VPH. Estos resultados son similares a los obtenidos en nuestro estudio.

Algunos estudios sugieren el posible papel de la infección múltiple y el desarrollo y progresión de la neoplasia cervical mientras que otros muestran que el riesgo de lesiones precancerosas o cáncer invasor en mujeres infectadas por múltiples tipos no es mayor que el de las infectadas por un único tipo de VPH. La evidencia más

reciente apunta a que los genotipos que coinfectan el cérvix actúan de forma independiente en el desarrollo de las lesiones cervicales.

4.2. Genotipo VPH

El riesgo de desarrollar CIN 3 o cáncer de cérvix está relacionado con el tipo de VPH. La persistencia de la infección por VPH-AR es un requisito imprescindible para el desarrollo de CIN 2-3 y cáncer de cérvix.

Dos estudios han calculado la duración media de la infección para VPH-AR y VPH-BR:

	VPH-AR	VPH-BR
Franco, 1999 (139)	13,5 meses	8,2 meses
Muñoz, 2004 (126)	14,8 meses	11,1 meses

Tabla 35. Duración media de la infección por VPH-AR.

Khan y colaboradores (74) estudiaron las diferencias en la progresión a CIN 3 según el tipo de VPH-AR. En mujeres infectadas por VPH-AR con citología inicial negativa, el 10% de las mujeres infectadas por el VPH 16 o 18 presentaron CIN 3 a los 3 años. El 18-20% a los 10 años. Sin embargo la progresión a CIN 3 de las mujeres con otros tipos de VPH-AR fue del 3%.

Los tipos del VPH-AR identificados en nuestro estudio por orden de frecuencia son:

1. El **VPH 16** se detectó en el 74,8% de los casos:
 - De forma aislada en un 51,4%.

- En un 16,2% de los casos se detectó infección por VPH 16 y otros VPH-AR. En un 5,4% de los casos coexistía infección por VPH 16 y 18. El 1,8% de los casos se trataba de una infección producida por el VPH 16,18 y otros VPH-AR.
2. El segundo tipo viral según su frecuencia es el **VPH 18**, detectado en el 10.8% de los casos:
 - En el 3,6% de forma aislada.
 - En el 7,2 % de los casos se detectó coinfección con otros tipos virales.
 3. El **VPH 33** estaba presente en el 5,4% de los casos.
 4. El **VPH 45** se identificó en un 4,5% de los casos.
 5. El **VPH 31** se halló en el 1,8% de los casos.
 6. El **VPH 56** en el 1,8% de los casos.

En el Metaanálisis realizado por **Smith y colaboradores** (25) de 85 estudios publicados hasta febrero de 2002 con 10.058 casos de cáncer de cérvix, actualizado en el año 2006 (24), en que se incluyeron 14.500 casos de cáncer de cuello uterino, los tipos del VPH identificados con más frecuencia son, por orden de prevalencia decreciente, el VPH 16, 18, 33, 45, 31, 58, 52, 35, 59, 26, 52, 39,66, 73, 68 y 82.

Estos datos son similares a los obtenidos en nuestro estudio.

Hemos estudiado la relación entre el tipo de VPH y la lesión cervical. Observamos que la frecuencia del VPH 16 aumenta a medida que aumenta el grado de lesión del cuello uterino:

- El VPH 16 se identificó en el 66,7% de los casos CIN 1.
- En los casos CIN 2-3 se detectó infección por el VPH 16 en el 72,9% de los casos.

- En el 100% de los **carcinomas** de cérvix de la muestra existe infección por el VPH 16.

4.3.Colposcopia

La colposcopia tiene como objetivo establecer el diagnóstico y la orientación terapéutica de la patología benigna y premaligna causada por el VPH y controlar su evolución.

Una revisión de la Cochrane (140), basada en la evidencia actualmente disponible sobre el empleo de la colposcopia, concluye que es un método excelente para el estudio de mujeres con citología anormal, pero sin utilidad como test de cribado primario ni como sustituto de la evaluación histológica. Confirma su eficacia en establecer la topografía de las lesiones y localizar las áreas más sospechosas para dirigir la biopsia. Además se confirma su eficacia en la planificación individual de la terapia más efectiva.

El porcentaje de cambios mayores frente a los cambios menores, en nuestra serie fue del 68,5% frente a un 16,2%, respectivamente. En un 1,8% de los casos, el resultado colposcópico fue sospecha de cáncer invasor de cérvix.

Al estudiar la relación entre los resultados colposcópicos y la lesión cervical se obtiene una relación estadísticamente significativa ($p \leq 0,0001$). Observamos que el porcentaje de cambios menores disminuye a medida que aumenta el grado de lesión del cuello uterino. En un 2,1% de los casos, el informe colposcópico fue normal en los casos CIN 2-3. En un 20% de los casos de carcinomas la colposcopia fue insatisfactoria.

Hammes y colaboradores (141), publican en 2008 un estudio cuyo objetivo era evaluar la capacidad de la colposcopia en predecir el diagnóstico histológico al aplicar la clasificación de la Federación Internacional de Patología Cervical y Colposcopia. Los hallazgos colposcópicos clasificados como cambios mayores tuvieron mayor valor predictivo positivo (VPP) para CIN 2+ y los cambios menores tuvieron un VPP muy bajo para CIN 2+.

4.4. Biopsia cervical

La biopsia dirigida colposcópicamente se considera el “Gold Standard” en el diagnóstico de la patología cervical (60).

En nuestra serie la biopsia del cuello uterino se realizó en el 76,6% de las pacientes. Analizando nuestros resultados de punch biopsia cervical y lesión histológica del cono, hemos encontrado una relación estadísticamente significativa ($p \leq 0,0001$).

Un meta-análisis de nueve publicaciones, realizado por **Mitchell y colaboradores** (142), analizó la exactitud diagnóstica de la colposcopia+biopsia y concluye que para diferenciar el epitelio normal del que presenta cualquier anormalidad, la suma de la colposcopia y la biopsia ofrece una sensibilidad del 95%, con una especificidad del 45%. La especificidad aumenta al 67% cuando diferenciamos entre cérvix normal-LSIL frente a CIN2-3, aunque paralelamente se reduce la sensibilidad al 79%.

5. CONSIDERACIONES SOBRE LA CONDUCTA TERAPEÚTICA Y SEGUIMIENTO.

Una revisión de 29 estudios, realizada por **Martin-Hirsch PPL y colaboradores** (143), compara 7 tipos de tratamiento de la neoplasia intraepitelial cervical. No encuentran diferencias significativas en cuanto al resultado de la eficacia del tratamiento las diferentes técnicas.

Tratamiento	Eficacia
Conización, bisturí	90-94%
Conización, láser	93-96%
Asa diatérmica LLETZ	91-97%
Vaporización láser	90-95%
Crioterapia	77-90%

Tabla 36. Resultados de eficacia de los tratamientos de la CIN. Adaptada de la referencia 137

Nouvo y colaboradores (144), en una revisión sistemática, tampoco encuentran diferencias entre el cono frío, la ablación con láser, la crioterapia y el asa diatérmica con una mediana de seguimiento de 12 meses.

5.1. Conización

El tratamiento escisional es de elección en las lesiones CIN 2-3. La escisión con asa diatérmica consiste en la exéresis de toda la zona de transformación, incluyendo la totalidad de la lesión.

En el estudio de los márgenes de la conización de nuestra serie, resultaron afectados en:

- Un 12,6% (14 casos) los márgenes exocervicales.
- Un 15,3% (17 casos) los márgenes endocervicales.

Según **Murdoch y colaboradores** (145) uno de los inconvenientes de la conización con asa diatérmica es el alto porcentaje de escisiones incompletas, que llega hasta un 44%.

Centeno y colaboradores (146), publican los resultados del tratamiento de 720 asas, el porcentaje de márgenes afectos del 14%.

Hemos estudiado la posible relación entre la lesión cervical y la afectación de los márgenes de la conización:

- Encontramos relación estadísticamente significativa entre las variables lesión cervical y afectación de márgenes exocervicales ($p= 0,001$), el porcentaje de bordes exocervicales afectados en las conizaciones de nuestra muestra es mayor a medida que aumenta el grado de lesión histológica cervical.
- Al relacionar las variables lesión cervical y afectación de márgenes endocervicales, no obtenemos relación significativa pero, se observa que cuanto mayor es el grado de lesión, mayor es el porcentaje de márgenes endocervicales afectos.

Las pacientes con afectación de los márgenes endocervical y/o exocervical tienen más riesgo de recurrencia de CIN, con un riesgo relativo del 8,23% (147). Sin embargo la escisión incompleta no es sinónimo de lesión residual. El daño térmico en los márgenes de resección puede dificultar su evaluación histológica. La frecuencia del daño térmico es dependiente de la experiencia y habilidad del cirujano y de la utilización de un equipo adecuado (148).

Soutter y colaboradores (104) en 2005 realizan un estudio para valorar el riesgo a largo plazo de cáncer invasor de cuello uterino de las pacientes tratadas por CIN. Publican que estas pacientes tienen un riesgo de desarrollar un cáncer invasor 5 veces mayor que el de la población general, y éste puede aparecer en un periodo de 10 a 20 años después del tratamiento.

5.2.Seguimiento

Es importante informar a la paciente de la necesidad de realizar controles posteriores tras el tratamiento de CIN.

El seguimiento de las lesiones escamosas intraepiteliales tras el tratamiento escisional, se define como “*La observación y la vigilancia de las pacientes asintomática, clínicamente libres de enfermedad*”. El objetivo de las estrategias de vigilancia es detectar la enfermedad persistente o recurrente en un punto en el que la intervención terapéutica pueda prolongar, de forma significativa, la supervivencia de la paciente. Hasta la fecha, la efectividad de los programas de seguimiento después del tratamiento de las patologías ginecológicas premalignas del T.G.I. no han sido bien evaluadas.

Tras una conización con asa por CIN 2-3 se estima que entre el 5-30% de los casos se presenta una enfermedad recurrente o residual (146). Entendiendo como enfermedad residual la lesión que se pone de manifiesto en cualquiera de los controles realizados en el curso de los 12 primeros meses después de tratamiento y como enfermedad recurrente la que se presenta después del primer año de seguimiento durante el cual las citologías y las colposcopias han sido negativas. aparición. Es por lo que creemos de gran interés clínico y pronóstico la determinación del ADN-VPH a los 6 meses de la conización

Test de ADN-VPH

La determinación del ADN-VPH, no antes de los 6 meses del tratamiento ofrece una alta sensibilidad para la detección de la enfermedad residual. Sin embargo la baja especificidad de dicho test frente a la citología apoya la necesidad de realizar el seguimiento de estas pacientes con ambas pruebas (149). El tratamiento tiene como

objetivo eliminar la lesión y no tratar la infección por el VPH, pero existe evidencia de que el VPH-AR se negativiza en las lesiones extirpadas completamente. El aclaramiento de la infección por VPH es del 85-90% tras la conización (150), (151), (152).

En nuestra serie el test de ADN-VPH a los 6 meses de la conización se realizó en el 73% de los casos, resultando positivo en el 18% de los casos y negativo en un 55%. En el 11,7% de los casos se demostró persistencia del VPH 16 y en el 1,8% de los casos se identificó el VPH 53 y 33.

En 2009, **Chan y colaboradores** (153) realizan una revisión sistemática para evaluar el test de ADN-VPH en el seguimiento de las pacientes tratadas por CIN. Determinan que la sensibilidad del test de VPH para detectar lesión persistente o recurrente es del 90%.

En la siguiente tabla se muestran los resultados del VPN del test de ADN-VPH en el seguimiento postratamiento de la CIN, que en conjunto es del 98,4%:

Autores, año	Casos	VPH+		VPH-		VPN%
		n	CIN 2-3 (n)	n	CIN 2-3 (n)	
Elfgren et al. (154) 1996	23	4	4	19	0	100
Bollen et al. (155) 1997	91	30	5	61	0	100
Chua y Hjerpe (156) 1977	48	24	24	24	2	91,6
Nagai et al.	58	11	5	47	0	100

DISCUSIÓN

(152) 2000						
Kjellberg et al. (151) 2000	75	2	0	73	0	100
Paraskevaidis et al. (157) 2001	123	51	38	72	3	94,5
Lin et al (158) 2001	75	52	27	23	0	100
Jain et al. (159) 2001	111	76	32	35	0	100
Elfgren et al. (150) 2002	45	2	1	43	0	100
Bodner et al. (160) 2002	37	10	3	27	0	100
Nobbenhuis et al. (161) 2001	184	39	26	145	3	97,9
Acladiious et al (162) 2002	116	47	22	69	4	94,2
Zielinski et al	108	23	5	85	1	98,8

(163) 2003						
Alonso et al. (164) 2006	203	66	23	137	1	99,2
Total	1297	437	215	860	14	98,4

Tabla 37 Valor pronóstico del test del ADN de VPH en el seguimiento postratamiento de neoplasias intraepiteliales (CIN2-3). Adaptado de referencia (60)

En 2007 **Park y colaboradores** (165) publican un estudio de 337 pacientes sometidas a conización por CIN 3 o cáncer microinvasor, para estudiar los factores de riesgo de la enfermedad residual cervical tras la conización. Determinan que la probabilidad de enfermedad residual es de 2-31% si los márgenes son negativos, mientras que si están afectados la probabilidad es de 30-90%.

En nuestra serie el tratamiento **quirúrgico complementario** fue necesario en el 17,4% de los casos:

- En los casos de CIN 1 no fue necesario realizar tratamiento quirúrgico complementario.
- En el 10,4% de los casos CIN 2-3 se realizó una re-conización y en el 1% una histerectomía total.
- En el 20% de los casos de carcinomas de cérvix (n=2) se practicó una histerectomía simple, y en un 80% (n=8) una histerectomía radical modificada.

CONCLUSIONES

VI. CONCLUSIONES

1. La infección persistente por VPH es causa necesaria para el desarrollo del cáncer de cérvix y sus lesiones precursoras. En nuestra serie de 111 casos, en el 96,4% el test de ADN-VPH fue positivo.
2. Los VPH 16 y 18 son responsables del 70% de los casos de cáncer de cuello uterino a nivel mundial. Los VPH-ARs identificados en nuestra serie fueron, por orden de frecuencia: 16, 18 , 33, 45, 31,56. En el 100% de los carcinomas de cérvix de la nuestra serie, se detectó infección por el VPH 16, en el 30% de estos asociado al VPH 18.
3. La importancia clínica de la coinfección en la etiología del cáncer de cérvix es causa de extenso debate. La evidencia más reciente apunta a que los genotipos que coinfectan el cérvix actúan de forma independiente en el desarrollo de las lesiones cervicales. En el 35.1% de los casos de nuestra serie se identificó infección multigenómica por VPHs-AR.
4. Si infección por VPH-AR no se resuelve, se inicia un proceso de oncogénesis, que induce lesiones escamosas intraepiteliales (CIN) y a largo plazo la aparición de carcinoma invasor de cuello de útero. La edad media de las pacientes sometidas a conización cervical fue de 37,7 años. La edad media de las pacientes con diagnóstico de CIN 1 fue 34,67 años, la de las pacientes con CIN 2-3 fue 36,97 años y la de las pacientes con carcinoma invasor de cérvix 43,60 años.
5. La infección persistente por VPH es condición necesaria, pero no suficiente en el proceso de cancerogénesis del cuello uterino, por tanto, son necesarios cofactores que actúen junto al virus:

- a. Aproximadamente el 80% de las pacientes con diagnóstico histológico de CIN2-3 o carcinoma de cérvix, iniciaron sus relaciones sexuales entre los 16 y los 20 años.
 - b. La media de parejas sexuales fue 3,89.
 - c. El 52,1% de las pacientes eran fumadoras. El porcentaje de mujeres fumadoras es mayor en los casos con diagnóstico de CIN 2-3 y carcinoma de cérvix.
 - d. El 34,2 % de las mujeres utilizaban anticoncepción hormonal.
 - e. El número de partos aumenta a medida que se agrava la lesión histológica. En los casos con diagnóstico de carcinoma de cérvix el número de partos es más del doble que en los de CIN 2-3.
 - f. El 3,6% de las pacientes se encontraba en un estado de inmunodepresión. En los casos de carcinoma invasor de cérvix porcentaje de pacientes inmunodeprimidas fue del 10%.
6. En el análisis histológico de los conos encontramos un 1,7% de conizaciones “en blanco“, un 86,5% de CIN 2-3 y un 9% de carcinomas de cérvix La afectación de los márgenes exo y endocervicales del cono, fueron del 12,6% y del 15,3%, respectivamente. Cuanto mayor fue el grado de lesión histológica mayor fue la frecuencia de márgenes afectados.
7. La determinación del ADN-VPH a los 6 meses del tratamiento ofrece una alta sensibilidad para la detección de la enfermedad residual. El test de ADN-VPH se realizó en el 73% tras la conización. El 55% de los casos fueron negativos. En los casos en los que se demostró persistencia del VPH el más frecuente fue el VPH 16 (11,7%).
8. El tratamiento quirúrgico complementario fue necesario en el 11,4% de los casos CIN 2-3, en el 10,4% se realizó una segunda conización y en el 1% una histerectomía total. En los casos con carcinoma de cérvix, en el 20% se practicó una histerectomía simple y en un 80% una histerectomía radical modificada.

BIBLIOGRAFÍA

VII. BIBLIOGRAFÍA

1. **Bosch FX, Lorinz A, Muñoz N, Meijer CJ, Shah KV.** *The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer.* s.l. : J Clin Pathol, 2002. 55(4): 244-65.
2. **Bosch FX, Manos MM, Muñoz N, Sherman M, Jansen A, Peto J. et al.** *Prevalence of HPV in cervical cancer: a Worldwide perspective.* s.l. : J Natl Cancer Inst, 1995. 87: 796-802.
3. **Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM.** *Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008.* s.l. : Int J Cancer, 2010. 127:2893-917.
4. **Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin DM.** *GLOBOCAN 2002: Cancer incidence, mortality and prevalence worldwide. IARC cancerBase N° 5. Version 2.0.* Lyon : IARC Press, 2005.
5. **Sant M, Aareleid T, Berrino F, Bielska LM, Carli PM, Faive J. et al.** *EUROCORE-3: survival of cancer patients diagnosed 1990-94-results and comentary.* s.l. : Ann Oncol, 2003. 14(Supl 5):v61-118.
6. **Gondos A, Chokunonga E, Brenner H, Parkin DM, Sankila R, Borok MZ., et al.** *Cancer survival en a southern African urban population.* s.l. : Int J Cance, 2004. 112 (5): 860-4..
7. **Muñoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero S, Herrero R et al.** *Epidemiologic Classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer.* 2003. 348(6): 518-27.
8. **Fenton KA, Korovessis C, Johnson AM,, McCadden A, McManus S, et al.** *Sexual behaviour in Britain: report sexually transmitted infections and prevalent genital Chlmydia trachomatis infection.* s.l. : Lancet, 2001. 358 (9296): 1851-4.
9. **Puig- Tintoré LM, Castellsagué X, Torné A, de Sanjosé S, Roura E, et al.** *Coverage and factors associated with cervical cáncer screenigg: results from the*

AFRODITA study: a population-based survey in Spain. J Low Genit Trat Dis. 2008 Apr. 12 (2): 82-9.

10. **Parkin DM.** *The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002.* s.l. : Int J Cancer, 2006. 118: 3030-44.

11. **Muñoz N, Castellsagué X, de González A.B., Lutz Gissmann L.** *HPV in the etiology of human cancer.* s.l. : Vaccine, 2006. 24 Suppl 3: S1-10.

12. **Moscicki AB, Shiboski S, Broering J, et al.** *The natural history of The human papillomavirus infection as measured by repeated DNA testing in adolescent and young women.* s.l. : J Pediatr, 1998. 132:277-84.

13. **Myers ER, McCrory DC, Nanda K, Bastian L, Matchar DB.** *Mathematical model for the natural history of human papillomavirus infection and cervical carcinogenesis.* s.l. : Am J Epidemiol, 2000. 151:1158-71.

14. **Trottier H, Franco EL.** *The epidedmiology of genital human papillomavirus infection.* s.l. : Vaccine, 2006. 24 (supl 1):S1-15.

15. **Clifford GM, Gallus S, Herrero R, Muñoz N, Snijders PJ, Vaccarella S, et al..** *Worldwide distribution of human papilloma virus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis.* s.l. : Lancet, 2005. 366:991-8.

16. **De Sanjosé S, Diaz M, Castellsagué X, Clifford G, Bruni L, Muñoz N, et al.** *Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis.* s.l. : Lancet Infect Dis, 2007. 7:453-9.

17. **Olalla MA, Moyano M, Jurado I, Olalla M^aM, Rodríguez-Pastor JL et al.** *Prevalencia de VPH en mujeres con citologías y colposcopias normales, en la unidad del T.G.I. de Málaga.* Mallorca : Poster N°19. IX Congreso AEEM, Oct. 2008.

18. **Olalla MA, Jurado I, Moyano R, Olalla M^a.M, Rizo A.B, Palacios S.** *Prevalence and genotype distribution of oncogenic-risk HPV in the cervix with normal Pap*

smears.(En prensa). s.l. : Climaterics, 2010,Jun. Vol. Aceptada.Ginecol.Obstet.Mex.

2011. Aceptada.Ginecol.Obstet.Mex. 2011.

19. <http://www.who.int/hpvcentre/en/>.

20. www.who.int/hpvcenter, WHO/ICO Information Center on HPV and Cervical Cancer. 2009.

21. **Castellsagué X.** *Epidemiología e historia natural del VPH y enfermedad asociada. Prevención del cáncer cervical: vacunación y colposcopi.* 2011. 35.

22. **Schwarz E, Freese UK, Gissmann L, Mayer W, Roggenbuck, et al.** *Structure and transcription of human papillomavirus sequences in cervical carcinoma cells.* s.l. : Nature, 1985 Mar. Vols. 7-13, 314 (6006): 111-4. 7-13, 314 (6006): 111-4.

23. **Muñoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV et al.** *International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer.* s.l. : N Engl J Med Feb, 2003. 6, 348 (6):518-27.

24. **Clifford GM, Smith JS, Plummer M, Munoz N, Franceschi S.** *Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a meta-analysis.* s.l. : Br.J.Cancer, 2003. 88(1):63-73.

25. **Smith JS, Lindsay L, Hoots B, Keys J, Franceschi S, Winer R et al.** *Human papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical lesions: a meta-analysis update.* s.l. : Int J.Cancer, 2007. 121(3):621-32.

26. **Winer RL, Kiviat NB, Hughes JP, Adam DE, Lee SK, Kuypers JM, et.** *Development and duration of human papillomavirus lesions, after initial infection.* s.l. : J Infect Dis, 2005. 191 (5): 731-8.

27. **Castellsagué X, Bosch FX, Muñoz N.** *Environmental co-factors in Human Papillomavirus carcinogenesis.* s.l. : Virus Res, Nov.2002. 89 (2): 191-199.

28. **Winer RL, Hughes JP, Feng Q, O Reilly S, et al.** *Condom use and the risk of genital HPV infection in young women.* s.l. : The New England.Journal of Med, 2006. 354: 2645-54.

29. **Castellsague X, Bosch FX, Muñoz N, et al.** *Male circumcision, penile human papillomavirus infection, and cervical cancer in female partners.* s.l. : N Engl J Med, 2002. 346: 1105-1112.
30. **Winer RL, Hughes JP, Feng Q, O'Reilly S, Kiviat NB, Colmes KK, et al.** *Condom use and the risk of genital human papillomavirus infection in young women.* s.l. : N Engl J Med, 2006. 354:2645-54.
31. **Puig-Tintoré LM, Alba A, Bosch FX, Castellsagué X, Coll C, Cortés X, Torné A, Vidart JA.** *La infección por papilomavirus. Documento de consenso de la SEGO, SEC y AEPCC. Documentos de Consenso SEGO 2002.* Madrid : Meditex-Sanex, 2003. 41-104 (ISSN: 1138-6185).
32. **Nobbenhuis MA, Helmerhorst TJ, van den Brule AJ, Rozendaal L, Voorhorst FJ, Bezemer PD et al.** *Cytological regression and clearance of high-risk human papillomavirus in women with an abnormal cervical smear.* s.l. : Lancet, 2001. 358:1782-83.
33. **Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M et al.** *The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology.* s.l. : JAMA, 2002. 287(16):2114-2119.
34. **Tavassoli F.A., Devilee P.** *International Agency for Research on Cancer, World Health Organization. Pathology and genetics of tumours of the breast and female genital organs.* Lyon: International Agency for Research on Cancer : s.n., 2003.
35. **Moscicki AB, Shiboski S, Hills NK, Powell KJ, Jay N, Hanson EN et al.** *Regression of low-grade squamous intra-epithelial lesions in young women.* s.l. : Lancet, 2004. 364:1678-83.
36. **Nobbenhuis MAE, Helmerhorst TJM, Van den Brule AJC, Rozendaal L, Voorhorst FJ, Bezemer PD, et al.** *Cytological regression and clearance of high-risk human papillomavirus in women with an abnormal cervical smear.* s.l. : Lancet, 2001. 358: 1782-3.
37. **Ostor GA.** *Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review.* s.l. : Int J Gynecol Pathol, 1993. 12:186-92.

38. **Castle PE, Rodriguez AC, Burk RD, Herrero R, Wacholder S, et al.** Proyecto Epidemiológico Guanacaste (PEG) Group. *Short term persistence of human papillomavirus and risk of cervical precancer and cancer: population base cohort study.* s.l. : BMJ, 2009. Jul 28; 339:b2569.
39. **Ho GY, Bierman R, Beardsley L, et al.** *Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women.* s.l. : N Engl J Med, 1998. 338:423-8.
40. **Richardson H, Kelsall G, Tellier P, Voyer H, Abrahamowicz M, Ferenczy A, et al.** *The natural history of type-specific human papillomavirus infections in female university students.* s.l. : Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2003. 12:485-90.
41. **Burchell AN, Eduardo L, Franco EL.** **Epidemiology of oncogenic and nononcogenic HPV types, and the evidence for differences in their sexual transmissibility. En: Monsonego Burchell AN, Eduardo L, Franco EL.** *Epidemiology of oncogenic and nononcogenic HPV types, and the evidence for differences in their sexual transmissibility.* s.l. : Monsonego J, editor. Emerging issues on HPV infections: from science to practice. Basel: Karger, 2006. 20-23.
42. **Schiffman M, Kjaer SK.** *Natural history of anogenital human papillomavirus infection and neoplasia.* s.l. : J Natl Cancer Inst, 2003. 31; 14-9.
43. **Castellsague X, Bosch FX, Muñoz N.** *Environmental co-factors in HPV carcinogenesis.* s.l. : Virus Research, 2002. 89; 191-9.
44. **Castellsagué X, Muñoz N.** *Cofactors in human papillomavirus carcinogenesis-role of parity, oral contraceptives, and tobacco smoking.* s.l. : J Natl Cancer Inst Monogr., 2003. 31:20-8.
45. **Cogliano V, Baan R, Straif Y et al. .** *Carcinogenicity of Human Papillomaviruses.* s.l. : Lancet Oncol., 2005. Issue 4: 204..
46. **Muñoz N, Franceschi S, Bosetti C, et al. .** *Role of parity and human papillomavirus in cervical cancer: the IARC multicentric case-control study.* s.l. : Lancet, 2002. 359:1093-101.

47. **Smith JS, Muñoz N, Herrero R, et al.** *Evidence for Chlamydia Trachomatis as a human papillomavirus cofactor in etiology of invasive cervical cancer in Brazil and the Philippines.* s.l. : J Infect Dis, 2002. 185: 324-331.
48. **Smith JS, Bosetti C., Muñoz N., Herrero R., Bosch F.X., Eluf -Neto J., et al.** *Chlamydia trachomatis and invasive cervical cancer: a pooled analysis of the IARC multicentric case-control study.* s.l. : J. Cancer, 2004. 111, 431–439.
49. **Smith J.S., Herrero R., Bosetti C., Muñoz N., Bosch F. X., Eluf-Neto J., et al.** *Hepes Simplex Virus-2 as Human Papillomavirus Cofactor in the Etiology of Invasive Cervical Cancer.* s.l. : J. Natl Cancer Inst., 2002. 94 (21): 1604-13.
50. **Rieck G, Fiander A.** *The effect of lifestyle, role of diet and nutrition factors on gynaecological cancer.* s.l. : Best Practice and Research Clinical Obstetrics and Gynaecology, 2006. 20 (2):227- 251.
51. **Vinokurova S, Wentzensen N, Kraus I, Klaes R, Driesch C, Melsheimer P et al.** *Type-dependent integration frequency of human papillomavirus genomes in cervical lesions.* s.l. : Cancer Res, 2008. 68:307-13..
52. **Wang SS, Hildesheim A.** *Viral and host factors in human papillomavirus persistence and progression.* s.l. : J Natl Cancer Inst Monogr, 2003. 31:35-40.
53. **Grodzki M, Besson G, Clavel C, Arslan A, Franceschi S, Birembaut P, et al.** *Increased risk for cervical disease progression of French women infected with the human papillomavirus type 16 E6-350G variant.* s.l. : Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2006. 15:820-2.
54. **Moberg M, Gustavsson I, Gyllensten U.** *Type-specific associations of human papillomavirus load with risk of developing cervical carcinoma in situ.* s.l. : Int J Cancer, 2004. 112: 854- 9.
55. **Moberg M, Gustavsson I, Wilander E, Gyllensten U.** *High viral loads of human papillomavirus predict risk of invasive cervical carcinoma.* s.l. : Brit J Cancer, 2005. 92:891-4.

56. **Ordi J, Puig-Tintoré LM, Torné A, Sanz S, Esteve R, Romagosa C, et al.** *Contribución de la detección del virus del papiloma humano de alto riesgo al estudio de las lesiones premalignas y malignas del cérvix uterino.* s.l. : Med Clin (Barc), 2003. 121:441-5.
57. **Clavel C, Masure M, Bory JP, Putaud I, Mangeonjean C, Lorenzato M, et al.** *Human papillomavirus testing in primary screening for the detection of high-grade cervical lesions: a study of 7932 women.* s.l. : Br J Cancer., 2001. 89:1616-23.
58. **Hudelist G, Manavi M, Pischinger KI, Watkins-Riedel T, Singer CF, Cubista E, Czerwenka KF.** *Physical state and expression of HPV DNA in benign and dysplastic cervical tissue: different levels of viral integration are correlated with lesion grade.* s.l. : Gynecol Oncol, 2004. 92: 873-80.
59. **Molano M, Van den Brule A, Plummer M, Weiderpass E, Posso H, Arslan A, et al. HPV Study Group.** *Determinants of clearance of human papillomavirus infections in Colombian women with normal cytology: a population-based, 5-year follow-up study.* s.l. : Am J Epidemiol., 2003. 158: 486-94.
60. **Puig-Tintoré LM, Cortés X, Castellsagué X, Torné A, Ordi J, de Sanjosé S, Alonso I, Cararach M, Vidart JA, Alba A, Martínez- Escoriza JC, Coll C, Vilaplana E, Hardisson D, Bosch X.** *Prevención del cáncer cuello uterino ante la vacunación frente a virus del papiloma humano.* s.l. : Prog Obstet Ginecol, 2006. 49 Supl 2: 5-62..
61. **Ziegert C, Wentzensen N, Vinokurova S, Kisseliov F, Eienkel J et al.** *A comprehensive analysis of HPV integration loci in anogenital lesions combining transcript and genome-based amplification techniques.* s.l. : Oncogene, 2003. 22:3977-3984.
62. **Scheffner M, Münger K, Byrne JC, Howley PM.** *The state of the p53 and retinoblastoma genes in human cervical carcinoma cell lines.* s.l. : Proc Natl Acad Sci USA., 1991. Jul 1; 88 (13):5523-7.

63. **Vidart, JA.** *Estrategias de Cribado del Cáncer de cuello uterino: Papel de la Citología.* Hotel NH Málaga : Curso de formación: VPH y cáncer del tracto genital inferior., 2009.
64. **S, De Sanjosé.** *Historia de cribado en mujeres con cáncer infiltrante de cuello uterino.* s.l. : Gaceta Sanitaria, 2006. 20: 166-70.
65. **Cancer, IARC International Agency for Research on.** *Cervix Cancer Screening.* s.l. : Iarc Handbooks of Cancer Prevention, 2005. Vol. 10. IARCPress Lyon. Vol 10.
66. **A.C.S.** *Cáncer facts and figures 2008.* s.l. : American Cáncer society, 2008.
67. **A.C.O.G.** *Practice Bulletin: clinical management guidelines for obstetrician-gynecologists.* s.l. : Cervical Cytology Screening., 2003. Nº 45. August.
68. **Cuzick J, Clavel C, Petry KU et al.** *Overview of the European and North American studies on HPV testing in primary cervical cancer screening.* s.l. : Int J Cancer, 2006. 119: 1095-1101.
69. **Brown AD, et al.** *Cost-effectiveness of 3 methods to enhance the sensibility of Papanicolaou testing.* s.l. : JAMA, 1999. 281:347-353.
70. **Arbyn M, Bergeron C, Klinkhamer P, Martin-Hirsch P, Siebers AG, Bulten J.** *Liquid compared with conventional cervical cytology: a systematic review and meta-analysis.* s.l. : Obstet Gynecol., 2008. 111: 167-77.
71. **Cuzick J, Arbyn M, Rengswamy S et al.** *Overview of Human Papillomavirus-Based and Other Novel Options for Cervical Cancer Screening in developed and undeveloping Countries.* s.l. : Vaccine, 2008. 26S: (29-41).
72. **Ronco G, Giorgi-Rossi P, Carozzi F et al.** *Results at recruitment from a randomized controlled trial comparing human papillomavirus testing alone with conventional cytology as the primary cervical cancer screening test.* s.l. : J Natl Cancer Inst, 2008. 100:492-501.
73. **Snijders PJF, van den Brule AJC, Meijer CJLM.** *The clinical relevance of human papillomavirus testing: relationship between analytical and clinical sensitivity.* s.l. : Journal of Pathology J Pathol., 2003. 201: 1-6.

74. **Kanh MJ, Castle PE, Lorincz AT, Wacholder S, et al.** . *The elevated 10-year risk of cervical pre-cancer and cancer in womenwith HPV type 16 or 18 and possible utility of type. Specific HPV testing in clinical practice.* s.l. : J Natl Cancer Inst, 2005. 97: 1072-9.
75. **Ordi J, Garcia S, del Pino M, Landolfi S, Alonso I, et al.** *p16INK4a immunostaining identifies occult CIN lesions in HPV-positive women.* s.l. : Int J Gynecol Pathol, 2009. 28:90-7.
76. **Bergeron C, Ordi J, Schmiedt D, Trunk MJ, Keller T et al.** *European CIN tec Histology Study Group. Conjunctive p16INK4a testing significantly increases accuracy in diagnosin highgrade cervical intraepithelial neoplasia.* s.l. : Am J Clin Pthol., 2010 Mar. 133(3):395-406.
77. **Ikenberg H, Scdmidt D, Griesser H, Alameda F, Angeloni C et al.** *Utility of p16/Ki-67 dual stained cytology in detecting high-grade disease in primary cervical cancer screening and in Management of Pap cytology abnormalities.* s.l. : Results from the PALMS trial. Submitted.
78. **Borges JP, Puig-Tintoré LM, Primary ASCUS y L-SIL.** *Marker Study. Poster 06-002.* Edimburgh.U.K. : Cytology Congreso May, 2010. 16-20.
79. **(EEMAPS), Bergeron C.** *European Equivocal Middly Abnormal Pap Cytology Study. Poster 01-049 Cytology Congress.* Edimburgh. U.K. : s.n., 2010. May 16-20.
80. **Scherbring S, Wolfsbor G, et al.** *Pap/HPV Cotesting Study. Poster MA-06-005.* Berlin. Germany : 5° European Congreso for colposcopy, 2010. May 27-29.
81. **Gilles C, Manigart Y, Konopnicki D, Barlow P, Rozenberg S.** *Management and outcome of cervical intraepithelial neoplasia lesions: a study of matched cases according to HIV status.* s.l. : Gynecol Oncol., 2005. 96:112-8..
82. **Cortés J, Martínón-Torres F, Ramón y Cajal JM, Gil A, Velasco J, et al.** *Prevención primaria y secundaria de los cánceres de cuello y vulva: recomendaciones para la práctica clínica.* s.l. : Prog Obstet Ginecol, 2010. 53(Sup11):1-19.

83. **Dilne J, Rebolj M, Birembaut P, Petry KU, Szarewski A, Munk C, et al.** *Long Term predictive values of cytology and human papillomavirus testing in cervical cancer screening: joint European cohort study.* s.l. : BMJ, 2008. 333- 1754.
84. **Blade A, Cararach M, Castro M, Catalá-López F, Pérez-Escolano I, et al.** *Clinical management of abnormal cytology test results and costs associated with the prevention of cervical cancer in Spain.* s.l. : J Low Genit Tract Dis, 2010 Oct. 14(4):311-8.
85. **Goldie SJ, Gaffkin L, Goldhaber-Fiebert JD, Gordillo-Tobar A y Levin C, et al.** *Cost-effectiveness of carvical-cáncer sreening in five developping countries.* s.l. : Engl J Med., 2005. 353 (20): 2158-2168.
86. **Walker P, Dexeus S, De Palo G, Barrasso R, Campion M et al.** *From the Nomenclature Committee of the IFCPC. International Terminology of Colposcopy: An Updated Report fron the International Federation for Cervical Pathology and Colposcopy.* s.l. : Obstet Gynecol, 2003. 101:175-7.
87. **Hammes ls, Naud P, Passos EP, Matos J, Brouwers K, Rivoire W, Syrjänen KJ.** *Value of the international federation for cervical pathology and colposcopy (IFCPC) terminology in predicting cervical disease.* s.l. : J low genit Tract dis, 2007, Jul. 11(3):158-65.
88. **Sellors JW, Sankaranarayananaman R.** *La colposcopia y el tratamiento de la neoplasia intraepitelial cervical: Manual para principiantes.* s.l. : international agency for research on cancer. OMS., (2003).
89. **Fernandez, Dr.Lopez.** *Imágenes anormales.* Valencia : XXII Congreso anual de la AEPPC, 2010.
90. **Mitchell MF, Cantor SB, Ramanujam N, Tortolero-Luna G, Richards-Kortum R.** *Fluorescence spectroscopy for diagnosis of squamous intraepithelial lesions of the cervix.* s.l. : Obstet Gynecol, 1999. 93:462-70..
91. **Trottier H, Franco EL.** *The epidemiology of genital human papillomavirus infection.* s.l. : Vaccine, 2006.

92. **Cortés J, García de Paredes M, Muñoz E, Martínón-Torres F, et al.** *Documento de Consenso de las Sociedades Científicas Españolas: Vacunas Profilácticas frente al VPH.* s.l. : Prog Obstet Ginecol., 2009. 52: 32-44.
93. **Schwarz T, Leo O.** *Immune response to human papillomavirus after prophylactic vaccination with AS04-adjuvanted HPV-16-18 vaccine: Improving upon nature.* s.l. : Gynecol Oncol, 2008. 110 (3 Suppl 1): S1-10..
94. **Schiller JT, Lowy DR.** *Immunogenicity testing in human papillomavirus virus-like-particle vaccine trials.* s.l. : J Infect Dis, 2009. 200:166-71.
95. **Wheeler CM, Kjaer SK, Sigurdsson K.** *The impact of quadrivalent human papillomavirus (HPV; types 6,11, 16 and 18) L1 virus-like particle vaccine on infection and disease due to oncogenic nonvaccine HPV types in sexually active women aged 16-26 years.* s.l. : J Infect Dis, 2009. 199:936-44.
96. **Brown DR, Kjaer SK, Sigurdsson K.** *The impact of quadrivalent human papillomavirus (HPV 6, 11, 16 and 18) L1 virus-like particle vaccine on infection and disease due to oncogenic nonvaccine HPV types in generally HPV-naïve women aged 16-26 years.* s.l. : J Infect Dis, 2009. 199: 926-935.40.
97. **Naud P, on behalf of the PATRICIA Study Group.** *Cross-protective efficacy of the AS04-adjuvanted HPV 16/18 vaccine against oncogenic HPV 31, 33 and 45.* Monte Carlo. : Comunicacion SS 3-1 EUROGIN, 2010.
98. **Paavonen J, Salmerón J, Wheeler C et al.** *Final Phase III efficacy analysis of Cervarix™ in young women.* s.l. : 25th International Papillomavirus Conference, 2009. (Abstract o-29.06).
99. **Franco EL, Cuzick J, Hidselheim A, de Sanjose S.** *Chapter 20: Issues In planning cervical cancer screening in the era of HPV vaccination.* s.l. : Vaccine, 2006. 24S3: 171-177.
100. **Rizo AB, Campos L, Jurado I, Moyano R, Olalla MA.** *Estimación del conocimiento sobre la infección VPH de las pacientes remitidas a nuestra unidad de T.G.I. Huelva : 1º premio Poster. XVIII Congreso S.A.G.O., Junio.2010. 17-19..*

101. **Ribaldone R, Boldorini R, Capuano A, Arrigoni S, Di Oto A, et al.** *Role of HPV testing in the follow-up of women treated for cervical dysplasia.* s.l. : Arch Gynecol Obstet, (2010). 282:193–197.
102. **Prendiville W, Cullimore J, Norman S.** *Large Loop excision of the transformation zone (LLETZ). A new method of management for women with cervical intraepithelial neoplasia.* s.l. : Br J Obstet Gynecol, 1989. 96: 1054-60..
103. **Urdaneta-Machado JR, Uhia AM, Cepeda de Villalobos M, Guerra M, Nasser Baabel-Zambrano N et al.** *Conización con asas diatermias en lesiones premalignas de cuello uterino.* s.l. : Prog Obstet Gynecol., 2011. S0304-5013(11)00313-X..
104. **Soutter WP, Sasiene P, Panoskaltsis T.** *Long-term risk of invasive cervical cancer after treatment of squamous cervical intraepithelial neoplasia.* s.l. : Int J Cancer, 2005. 118: 2048-2055.
105. **Kalliala I, Nieminen P, Dyba T, Pukkala E, Antla A.** *Cancer free survival after CIN treatment comparisons of treatment methods and histology.* s.l. : Gynecol Oncol, 2007. 105:228-33..
106. **Joy Melnikow, Colleen McGahan, George F, Sawaya, Thomas Ehlen, Andrew Coldman.** *cervical intraepithelial neoplasia outcomes after Treatment: long-term Follow-up From the British columbia cohort study.* s.l. : J Natl Cancer Inst, 2009. 101: 721 – 728.
107. **Soutter WP, Sasieni P, Panoskaltsis T.** *long-term risk of invasive cervical cancer after treatment of squamous cervical intraepithelial neoplasia.* s.l. : Int J cancer, 2006. 118: 2048–55.
108. **Strander B, Andersson-Ellstrom a, Milsom i, Sparen P.** *Long term risk of invasive cancer after treatment for cervical intraepithelial neoplasia grade 3: population based cohort study.* s.l. : BMJ, 2007. 335: 1077..
109. **Zielinski GD, Bais AG, Helmerhorst TH, Verheijen RHM, de Schipper FA, et al.** *HPV testing and monitoring of women after treatment of CIN 3: Review of the literature and meta-analysis.* s.l. : Obst Gynecol Surv, 2004. 59: 543-53.

110. **Melnikow J, Kulasingam S, Slee C, Helms LS, et al.** *Surveillance after treatment for cervical intraepithelial neoplasia: outcomes, cost, and cost-effectiveness.* s.l. : Obstet Gynecol, 2010. 116(5): 1158-70..
111. **Wright TC, Massad LS, Dunton CHJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, Solomon D.** *2006 consensus guidelines for the management of women with cervical intraepithelial neoplasia or adenocarcinoma in situ.* s.l. : Am J Obstet Gynecol, 2007. 197: 340-5.
112. **Chan BK, Melnikow J, Slee CA, Arellanes R, Sawaya GF.** *Posttreatment human papillomavirus testin for recurrent cervical intraepithelial neoplasia: a systematic review.* s.l. : Am J Obstet Gynecol, 2009. 200(4):422e1-9.
113. **Kreimer AR, Guido RS, Solomon D.** *HPV testing following loop electrosurgical excision procedure identifies women at risk for post treatment cervical intraepithelial neoplasia.* *Cancer epidemiol.* s.l. : Biomarkers Prev, 2006. 15: 908-14.
114. **Paraskeivaidis E, Lalantaridou SN, Paschopoulos M, Zikopoulos K, Diakomanolis E, et al.** *Factors affecting outcome after incomplete excision of cervical intraepithelial neoplasia.* s.l. : Eur J Gynecol Oncol, 2003. 6: 541-3.
115. **Herrero R, Brinton LA, Reeves et al.** *Sexual behavior, venereal diseases, hygiene practices and invasive cervical cancer in a high-risk population.* s.l. : Cancer, 1990. 65:380-386.
116. **Brinton LA, Hamman RF, Huggins GR et al.** *Sexual and reproductive risk factors for invasive squamous cell cervical cancer.* s.l. : J Natl Cancer Inst, 1987. 79: 23-30.
117. **Muñoz N, Castellsague X, Berrington A, et al.** *El VPH en la etiología del cáncer humano.* s.l. : Vaccine, 2006. S3:67-75.
118. **La Vecchia C, Franceschi S, Decarli A, et al.** *Cigarette smoking and the risk of cervical neoplasia.* s.l. : Am J Epidemiol, 1986. 123:22-9..
119. **García Closas R, Castellsague X, Bosh X, González CA.** *The role of diet and nutrition in cervical carcinogenesis: a review of recent evidence.* s.l. : Int J Cancer, 2005. 20; 117 (4): 629-37.

120. **Ghaem-Maghami S, Sagi S, Majeed G, Soutter WP.** *Incomplete excision of cervical intraepithelial neoplasia and risk of treatment failure: a meta-analysis.* s.l. : Lancet Oncol., 2007. 8:985-93.
121. **GOLBOCAN.** www.who.int. [En línea] hpvcenter, 2007.
122. **De Sanjose S, Cortés X, Méndez C, Puig-Tintore L, Torné A.** *Age at sexual initiation and number of sexual partners in the female Spanish population Results from the AFRODITA survey.* s.l. : Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol., 2008. 140 (2): 234-240.
123. **Bosch FX, Castellsagué X, Cortés J, Puig-Tintoré LM, Roura E. et al.** *Estudio AFRODITA. Cribado del cáncer de cuello uterino en España y factores relacionados.* s.l. : GSK Eds., 2009. ISBN: 978-84-691-8490-S.
124. **Estudio nº2738.** *Centro de Investigaciones Sociológicas sobre actitudes y prácticas.* 2008.
125. **Kahn JA, Rosenthal SL, Succop PA, Ho GY, Burk RD.** *The interval between menarche and age of first sexual intercourse as a risk factor for subsequent HPV infection in adolescent and young adult women.* s.l. : J Pediatr., 2002. 141(5):718-23.
126. **Muñoz N, Méndez F, Posso H, Molano M, et al.** *Incidence, duration, and determinants of cervical human papillomavirus infection in a cohort of Colombian women with normal cytological results.* s.l. : J Infect Dis., 2004. 190: 2077-87..
127. **Winer R.L., Koutsky L.A.** *The epidemiology of human papillomavirus infetions.* En: Rohan TE, Shah KV, editores. *Cervical cancer: from etiology to prevention.* s.l. : Dordrecht The Netherlands: Kluwers Academic Publishers, 2004. 143-87.
128. **De Sanjosé S, Diaz M, Castellsagué X, Clifford G, Bruni L, Muñoz N, et al.** *Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis.* s.l. : Lancet Infect Dis, 2007. 7:453-9.

129. **Sierra-Torres CH, Tying SK, AU WW.** *Risk contribution of sexual behavior and cigarette smoking to cervical neoplasia.* s.l. : Int J Gynecol Cancer, 2003. 13(5):617-25.
130. **McIntyre-Seltman K, Castle PE, Guido R, SchiffmanM et al.** *Smoking is a risk factor for cervical intraepithelial neoplasia grade 3 among oncogenic human papillomavirus DNA-positive women with equivocal or mildly abnormal cytology.* s.l. : Cancer Epidemiol Biomarkers and Prev., 2005. Vols. 14(5):1165-70. 14(5):1165-70.
131. **Muñoz N, Franceschi S, Bosetti C, Moreno V, Herrero R,et al.** *Role of parity and human papillomavirus in cervical cancer: the IARC multicentric case-control study.* s.l. : Lancet., 2002. 359:1093-101.
132. **PHARMA., 6ª Encuesta DAPHNE-BAYER SHERING.** *Hábitos anticonceptivos de la mujer en España.* 2009.
133. **Moreno V, Bosch FX, Muñoz N, et al.** *Effect of oral contraceptives on risk of cervical cancer in women with human Papillomavirus infeccion: the IARC multicentric case-control study.* s.l. : Lancet., 2002. 359:1085-92..
134. **Smith JS, Green J, Berrington de Gonzalez A, et al.** *Cervical cancer and use of hormonal contraceptives. A systematic review.* s.l. : Lancet, 2003. 361: 1159-67.
135. **Marks S, Gravitt, PE, Gupta, SB, et al.** *The association of hormonal contraceptive use and HPV prevalence.* s.l. : Int J cancer, 2011. 128:2962-70.
136. **Ozsaran AA, Ates T, Dikmen Y, Zeytinoglu A, Terek C.** *Evaluation of the risk of cervical intraepithelial neoplasia and human papillomavirus infeccion in renal trasplant patients receiving inmunosuppressive therapy.* s.l. : Eur J Gynaecol Oncol., 1999. 20:127-30.
137. **Coronado P, Fasero M, Ramirez M, Arab C, Bellon M, García J, Vidart JA.** *La inmunosupresión es un factor mayor de riesgo en la recidiva de las lesiones del tracto genital inferior asociadas al virus del papiloma humano.* s.l. : Prog de Obstet Ginecol., 2010. 53(5):179-188.

138. **Pista A, oliveira A, Verdasca N and Ribeiro F.** *Single and multiple human papillomavirus infections in cervical abnormalities in Portuguese women.* s.l. : Clin Microbiol infect, 2011. 17: 941–946.
139. **Franco EL, Villa LL, Sobrinho JP, Prado JM, Rousseau MC.** *Epidemiology of adqusion and clearance of cervical human papillomavirus infeccion in women from a high-risl area for cervical cancer.* s.l. : J Infect Dis., 1999. 180: 1415-23..
140. **Kyrgiou M, Tsoumpou I, Vrekoussis T, Martin-Hirsch P, Arbyn M, Prendiville W, et al.** *The up-to-date evidence on colposcopy practice and treatment of cervical intraepithelial neoplasia: The cochrane colposcopy & cervical cytopathology collaborative group (C5 group) approach.* s.l. : Cancer Treat Rev, 2006. 32:516-23.
141. **Hammes LS, Naud P, Passos EP, Matos J, Brouwers K et al.** *Valor de la terminología de la Federación Internacional de Patología Cervical y Colposcopia (IFCPC) en la predicción de la enfermedad cervical:.* s.l. : J Low Genit Tract Dis (Edición española), 2008. (1-1) 14.
142. **Mitchell MF, Schottenfeld D, Tortolero-Luna G, Cantor SB, Richardas-Kortum R.** *Colposcopy for the diagnosis of squamous intraepithelial lesions: A Meta-Analysis.* s.l. : Obstet Gynecol, 1998. 91: 626-31.
143. **Martin-Hirsch PPL, Paraskevaidis E, Bryant A, Dickinson HO, Keep SL.** **Surgery for cervical intraepithelial neoplasia. Cochrane Database of Systematic**
ReMartin-Hirsch PPL, Paraskevaidis E, Bryant A, Dickinson HO, Keep SL. *Surgery for cervical intraepithelial neoplasia.* s.l. : Cochrane Database of Systematic Reviews, 2010. Issue 6. Art. N°.: CD001318.DOI: 10.1002/14651858. CD001318.pub2..
144. **Nuovo J, Melnikow J, Willan AR, Chan BK.** *Treatment outcomes for squamous intraepithelial lesions.* s.l. : Int J Gynaecol Obstet, 2000. 68:25-33.
145. **Murdoch JB, Grimshaw AN, Morgan PR, Monaghan JM.** *The impact of loop diathermy on management of early invasive cervical cancer.* s.l. : Int J Gynecol Cancer, 1992. 2:129.
146. **Centeno C, Xercavins J.** *Técnicas de tratamiento de las lesiones intraepiteliales.* En: Puig-Tintoré LM, Andia Ortiz D, editores. Barcelona : Puig-Tintoré LM, Andia

Ortiz D, editores. Patología del tracto genital inferior y colposcopia en España

2005. Asociación Española de Patología Cervical y Colp, 2006. 52-6.

147. **Dobbs SP, Asmussen T, Nunns D, Hollingworth J, Brown LJ.R, Ireland D.**

Does histological incomplete excision of cervical intraepithelial neoplasia following large loop excision of transformation zone increase recurrence rates? A six year cytological following up. s.l. : Br J Obstet Gynaecol, 2000. 107:1025-30.

148. **Paraskevaidis E, Kichener H, Malamou-Mitsi V, Agnanti N, Lois D.**

Thermal tissue damage following laser and largeloop conisation of the cervix. s.l. : Obstet Gynecol, 1994. 84: 752-54.

149. **Nobbenhuis MAE, Meijer CJLM, Van den Brule AJC, Rozendaal L,**

Voorhorst FJ, Risse EKJ, et al. *Addition of high-risk HPV testing improves the current guidelines on follow-up after treatment for cervical intraepithelial neoplasia.* s.l. : Bri J Cancer., 2001. 84:796-8.

150. **Elfgren K, Jacobs M, Walboomers JM, Meijer cJ, Dillner J.**

Rate of human papillomavirus clearance after treatment of cervical intraepithelial neoplasia. s.l. : Obstet gynecol, 2002. 100:965-71.

151. **Kjellberg I, Wadell G, Bergman F, Isaksson M, AngströmT, Dillner J.**

Regular isappearance of the human papillomavirus genome after conization of cervical epithelial dysplasiav by carbon dioxide laser. s.l. : Am J Obstet Gynecol, 2000. 183:1238–42.

152. **Nagai Y, Maehama T, Asato T, Kanawaza K.**

Persistence of human papillomavirus infection after therapeutic conization for CIN 3: is it an alarm for disease recurrence? s.l. : Gynecol Oncol, 2000. 79:294 –9..

153. **Chan BK, Melnikow J, Slee CA, Arellanes R, Sawaya GF.**

Posttreatment human papillomavirus testin for recurrent cervical intraepithelial neoplasia: a systematic review. s.l. : Am J Obstet Gynecol, 2009. 200(4): 422e1-9.

154. **Elfgren K, Bistoletti P, Dillner L, Walboomers JM, Meijer CJ, et al.**

Conization for cervical intraepithelial neoplasia is followed by disappearance of human papillomavirus deoxyribonucleic acid and a decline in serum and cervical mucus

antibodies against human papillomavirus antigens. s.l. : Am J Obstet Gynecol, 1996. 174: 937-42.

155. **Bollen LJM, Tjong-A-Hung SP, Van der Velden J, Mol BW, Boer K, Ten Kate FWJ, et al.** *Clearance of cervical human papillomavirus infection by treatment for cervical dysplasia.* s.l. : Sex Transm Dis., 1997. 24:456-60.

156. **Chua KL, Hjerpe A.** *Human papillomavirus analysis as a prognostic marker following conization of the cervix uteri.* s.l. : Gynecol Oncol., 1997. 66:108-13..

157. **Paraskevaides E, Koliopoulos G, Alamanos Y, Malamou-Mitsi V, Lolis ED, Kitchener HC.** *Human papillomavirus testing and the outcome of treatment for cervical intraepithelial neoplasia.* s.l. : Obstet Gynecol., 2001. 98:833-6..

158. **Lin CT, Tseng CJ, Lai CH, et al.** *Value of human papillomavirus deoxyribonucleic acid testing after conization in the prediction of residual disease in the subsequent hysterectomy specimen.* s.l. : Am J Obstet Gynecol., 2001. 184:940-5..

159. **Jain S, Tseng CJ, Horno SG, et al.** *Negative predictive value of human papillomavirus test following conization of the cervix uteri.* s.l. : Gynecol Oncol., 2001. 82:177-80.

160. **Bodner K, Bodner-Adler B, Wierrani F, Kimberger O, Denk C, Grunberger W.** *Is therapeutic conization sufficient to eliminate a high-risk HPV infection of the uterine cervix? A clinicopathological analysis.* s.l. : Anticancer Res., 2002. 22:3733-6..

161. **Nobbenhuis MAE, Meijer CJLM, Van den Brule AJC, Rozendaal L, Voorhorst FJ, Risse EKJ, et al.** *Addition of high-risk HPV testing improves the current guidelines on follow-up after treatment for cervical intraepithelial neoplasia.* s.l. : Bri J Cancer., 2001. 84:796-8.

162. **Acladios NN, Sutton C, Mandal D, Hopkins R, Zaklama M, Kitchener H.** *Persistent human papillomavirus infection and smoking increase risk of failure of treatment of cervical intraepithelial neoplasia (CIN).* s.l. : Int J Cancer., 2002. 98:435-9.

163. **Zielinski GD, Rozendaal L, Voorhorst FJ, Berkhof J, Snijders PJ, Risse EJ, et al.** *HPV testing can reduce the number of follow-up visits in women treated for cervical intraepithelial neoplasia grade 3.* s.l. : Gynecol Oncol., 2003. 91:67-73.
164. **Alonso I, Torné A, Puig-Tintoré LM, Esteve R, Quinto L, Campo E, et al.** *Pre- and post-conization high-risk HPV testing predicts residual/recurrent disease in patients treated for CIN 2-3.* s.l. : Gynecol Oncol., 2006. En prensa [citado 14 Jun2006]. Disponible on line.
165. **Park JY, Lee SM, Yoo CW, Kang S, Park SY, et all.** *Risk factors predicting residual disease in subsequent hysterectomy folloxing conizaciontion for cervical intraepithelial neoplasia (CIN) III and microinvasive cervical cancer.* s.l. : Gynecol Oncol, 2007. 107:39-44.
- .